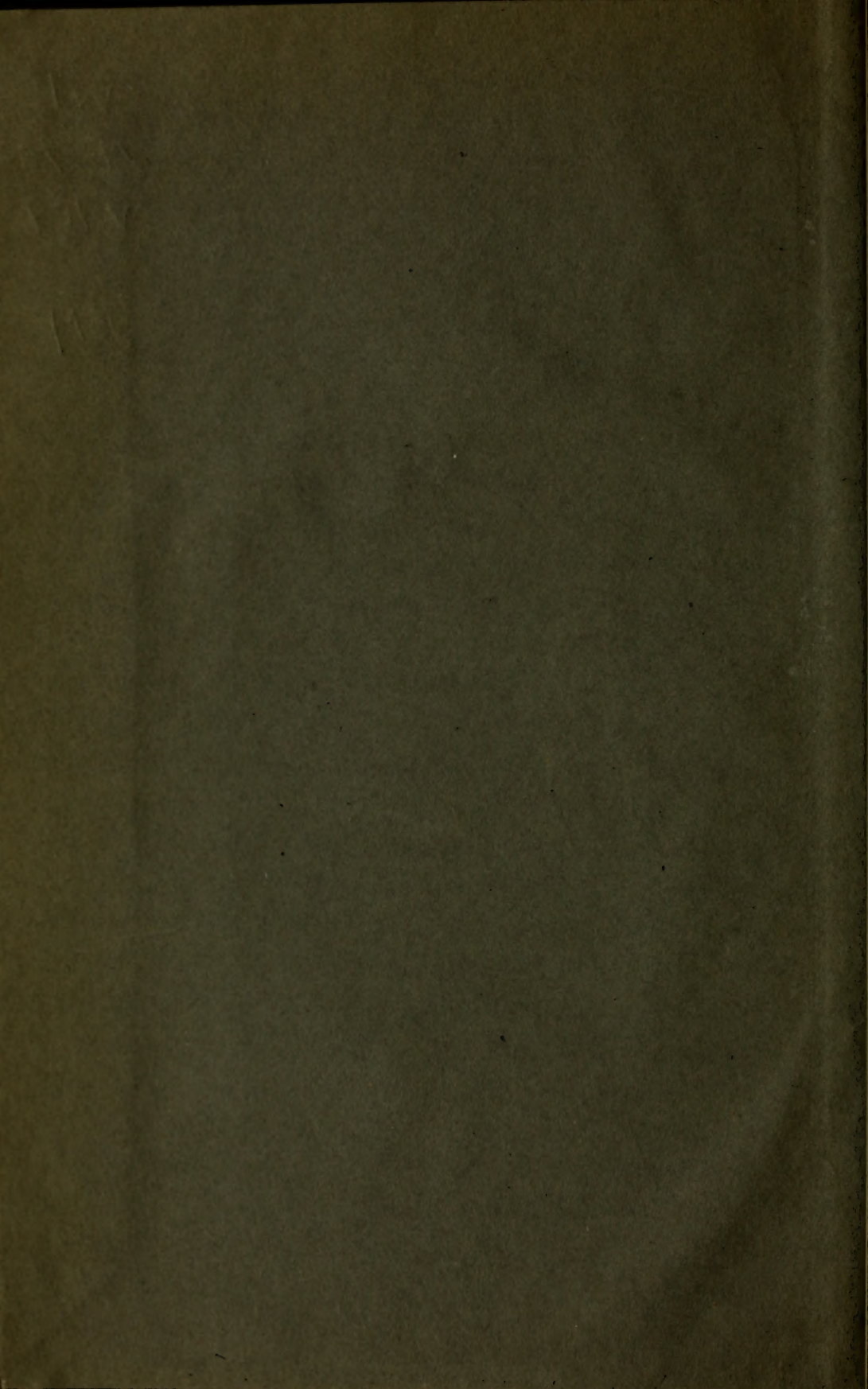


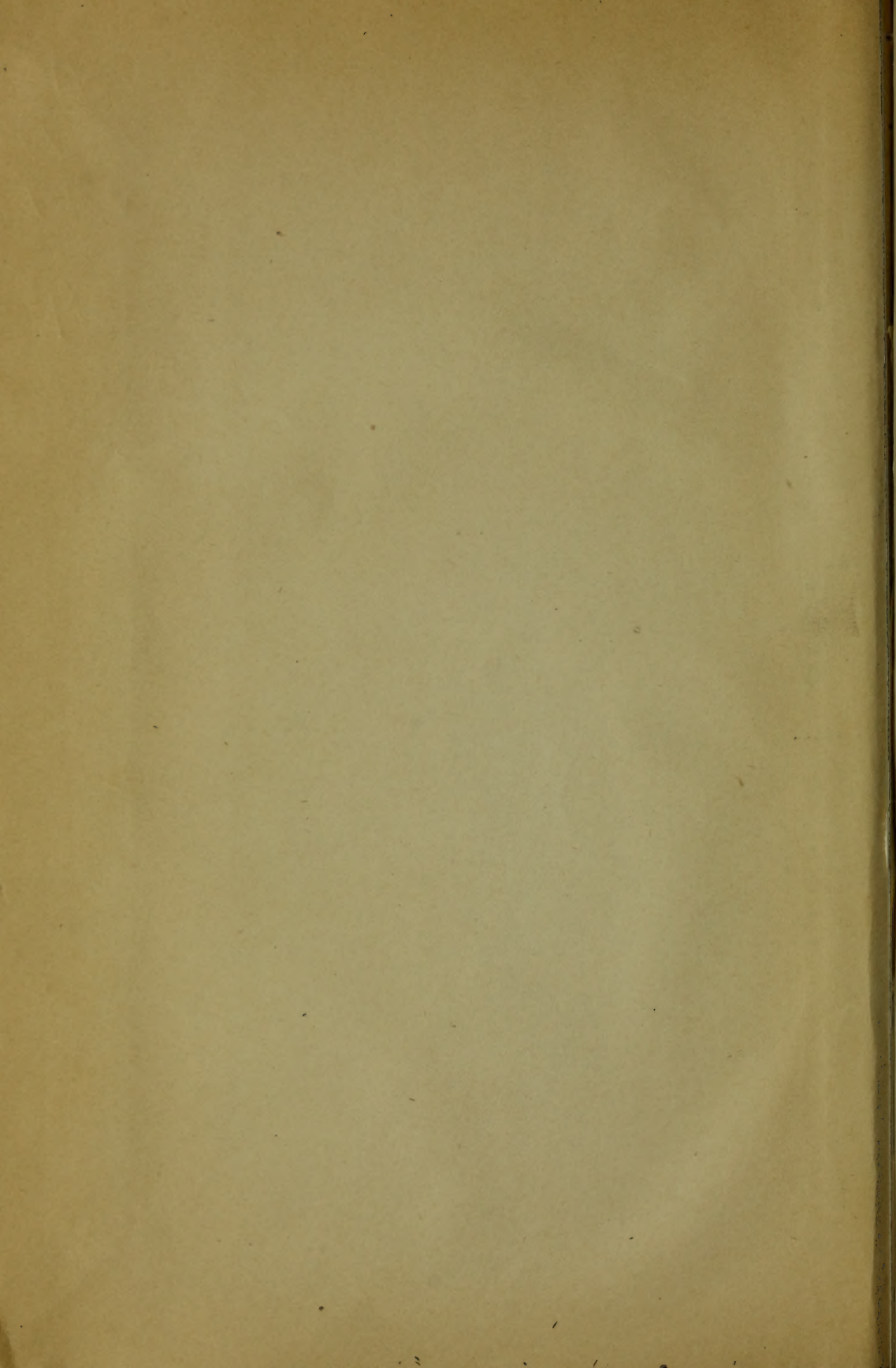
LIBRARY

UNIVERSITY OF
CALIFORNIA
SAN DIEGO

BIOMEDICAL LIBRARY
UNIVERSITY OF CALIFORNIA, SAN DIEGO
LA JOLLA, CALIFORNIA

BOOKBINDERS
CHAS. ELCE
& SON
LINCOLN, NEBR.





CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten

In Verbindung mit

Prof. Dr. R. Abel,
Geh. Obermed.-Rat in Jena

Prof. Dr. M. Braun,
Geh. Reg.-Rat in Königsberg

Prof. Dr. K. Kißkalt,
Geh. Med.-Rat, München

Prof. Dr. R. Pfeiffer,
Geh. Med.-Rat in Breslau

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm, Präsident Dr. A. Weber
Geh. Reg.-Rat in Bamberg in Dresden

und

Prof. Dr. E. Gildemeister,
Ober-Reg.-Rat, Berlin-Lichterfelde-W.

Erste Abteilung. 109. Band

Medizinisch-hygienische Bakteriologie
und tierische Parasitenkunde

Originale

Mit 110 Abbildungen im Text und 15 Tafeln



Jena

Verlag von Gustav Fischer
1928

CENTRALBLATT

Blutheologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten

in Verbindung mit

Prof. Dr. A. Wied.
Prof. Dr. A. Wied.
Prof. Dr. A. Wied.
Prof. Dr. A. Wied.
Prof. Dr. A. Wied.
Prof. Dr. A. Wied.

Printed in Germany.



Original



Ausgegeben am 26. Oktober 1928.

Nachdruck verboten.

Ein Beitrag zur kulturellen Unterscheidung des Pfeiffer-
schen Pseudotuberkulosebazillus von ähnlichen vogelpatho-
genen Bakterienarten (*Bact. avicidum* und *Bact.*
gallinarum).

[Aus dem Veterinär-Hygienischen Institute der Universität Leipzig
(Direktor: Obermedizinalrat Prof. Dr. M. Klimmer).]

Von **H. Haupt.**

In der letzten Zeit sind wiederholt (Beck und Huck 1924/25, Frohböse 1926, Lerche 1920/21, 1926, Krage und Weissgerber 1924, Stephan 1924/25, Dolfen 1916: Literaturnachweise außer Frohböse s. b. Lerche 1927) Bakterien als Erreger von Infektionskrankheiten der Puten, Tauben und Kanarienvögel beschrieben worden, deren Erkennung und Unterscheidung von anderen vogelpathogenen Bakterienarten auf gewisse Schwierigkeiten stoßen. Es handelt sich bei diesen Bakterien offenbar um die gleichen oder sehr ähnliche Arten, wie sie bereits früher von anderen Autoren als Erreger von Seuchen der Kanarienvögel beschrieben (Wassielewski und Hoffmann 1903, Pfaff 1905, Bryner 1906, Zwick sowie Miessner und Schern 1908, Zeiss sowie Binder 1914, wohl auch bereits Zürn 1884, Sticker 1888, Friedberger und Fröhner 1904: Lit. außer Bryner bei Zeiss 1914) und als Erreger von Putenseuchen (Magnusson nach Plasaj und Pribram) gefunden worden sind. Nach den Untersuchungen von Lerche 1927 sind diese für Vögel pathogenen Bakterien identisch mit dem Pfeifferschen Bazillus der Pseudotuberkulose der Nagetiere.

Bei der Prüfung einiger Stämme gleicher Art aus einem Falle einer Puteninfektion fand ich, daß diese Salizin zu spalten vermochten. Da dieses Kohlehydrat von keinem Vertreter der Typhus-Paratyphus-, einschl. der Gallinarumgruppe gespalten wird, so bestand hier eine Möglichkeit, ein bestimmtes unterschiedliches Verhalten des fraglichen Erregers von dem nur schwer abtrennbaren *Bact. gallinarum* festzustellen.

In der vorhandenen Literatur berichten Hadley (zit. nach Kelser) und Edington über Salizinvergärung durch das *B. Pfaffi* Hadley 1918 (den Pfaffschen Erreger der Kanarienvogelseuche), Hadley über die gleiche Eigenschaft eines Erregers einer von Rettger festgestellten Hühnerseuche (*Bact. Rettgeri* Hadley 1918) und Branch über dieselbe Fähigkeit eines bei einer Meerschweinchenseuche gefundenen Bazillus, während ich über den Pseudotuberkulosebazillus der Nagetiere keine Angaben hinsichtlich seiner Fähigkeit, Salizin zu vergären, finden konnte. Angehörige der Typhus-Paratyphus-Gruppe vermögen Salizin nicht zu spalten (u. a. Krumwiede, Kohn und Valentine), dies vermag auch insbesondere nicht das *Bact. gallinarum* (einschl. var. *pullorum*) (Lit. s. Klimmer und Haupt). Bei Untersuchungen von Stämmen des *Bact. plurisepticum* hat nur Tanaka m. W. Salizin mitberücksichtigt; Salizin wurde vergoren durch 3 von 5 *Avicidum*-stämmen, durch 4 von 6 *Lepisepticum*-stämmen, durch 6 von 8 *Bovisepticum*-stämmen, durch beide untersuchte *Ovisepticum*-stämmen und durch den einen untersuchten *Bubalisepticum*-stamm. Es kann also nach diesen Angaben als aussichtsreich gelten, die Kanarienvogel- und Putenstämmen (und nach Lerches Identitätsnachweis mit den Nagerpseudotuberkulosebazillen auch diese) durch einen Salizingärversuch vom *Bact. Salmonella* und *Bact. galli-*

narum abzutrennen, während eine Unterscheidung von den Angehörigen der Gruppe des *Bact. plurisepticum* mittels der Salizinvergärung nicht möglich ist. Erwähnt sei noch, daß über das Verhalten des Pestbazillus zum Salizin Angaben nicht gefunden wurden.

Beim Studium der einschlägigen Literatur erschien uns auch eine Nachprüfung der fraglichen Bakterienarten hinsichtlich ihres Verhaltens zu anderen Kohlehydraten wertvoll und wir fanden dabei, daß Adonit ebenfalls zur Differenzierung der fraglichen Stämme in Betracht kommen könnte. Das *Bact. pseudotuberculosis rodentium* bildet nach Poppe aus Adonit Säure (nach Saisawa nicht); für das *Bact. Pfaffi* liegt eine Angabe von Edington vor, der nach 16 Tagen Adonit vergoren sah; Hadley beschreibt diese Fähigkeit für das *Bact. Rettgeri*. Hingegen gibt Branch an, daß sein Stamm aus einer Meerschweinchenseuche Adonit nicht vergor. Angehörige der Typhus-Paratyphusgruppe und das *Bact. gallinarum* (Krumwiede, Kohn und Valentine, s. auch Klimmer und Haupt u. a.) vermögen Adonit nicht anzugreifen. Auch das *Bact. plurisepticum* vermag nach den mir bekannten Angaben aus Adonit keine Säure zu bilden [Tanaka, sowie Besemer (Journ. Bact. Vol. 2. 1917. p. 177), Magnusson (Ztschr. f. Infektionskrankh. d. Haust. Bd. 15. 1914. S. 61), Schirop bzw. Vourloud (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 47. S. 307 bzw. Bd. 45. 1908. S. 97 u. 193)]. Diese Angaben erstrecken sich auf die Erreger der Renntierpest, der Wild- und Rinderseuche, der Büffelseuche, der Kälberpneumonie, der Schweineseuche, des Schafrotzes, der Kaninchenseuche und der Geflügelcholera. An dieser Stelle sei erwähnt, daß auch der Pestbazillus nach Angaben Berlins Adonit nicht zu spalten vermag. Sollten sich diese Angaben, namentlich die Vermutung, daß die Pseudotuberkulosebazillen einschließlich der aus Puten und Kanarienvögeln gewonnenen Stämme Adonit vergären, bestätigen, so wäre ihre Abtrennung von dem *Bact. Salmonella* und dem *Bact. gallinarum* sowie endlich von dem *Bact. plurisepticum* (und dem *Bact. pestis*) in einfachster Weise ermöglicht.

Die übrigen in der Literatur niedergelegten Angaben über die hier in Frage kommenden Bakterien sind kurz folgende: Das *Bact. pseudotuberculosis rodentium* Pfeiffer (nach Lerche identisch mit dem *Bact. Pfaffi* Hadley und dem Erreger der sogenannten „Paracholera“ der Puten; *Bact. Pfaffi* nach St. John-Brooks und Rhodes identisch mit den von Krals Laboratorium bezogenen Stämmen „Postellea der Kanariencholera“, „Schnürers Kanarienvogelnekrose II und III“ und „Magnussons hämorrhagischer Septikämie der Truthühner“), das *Bact. gallinarum* Klein 1889 und das *Bact. avicidum* sind unbewegliche (träge Eigenbeweglichkeit haben nur St. John-Brooks und Rhodes bei ihren Vogelstämmen der *Pfaffi*-Gruppe festgestellt), gramnegative und nicht sporende Bakterien, die die Farbe im Ausstriche aus natürlichem Materiale von Vögeln vorzüglich an den Polen intensiv anzunehmen pflegen, sie spalten alle u. a. Glukose, Lävulose und Mannit, keines aber Laktose. Auf die hauptsächlichen Trennungsmerkmale des *Bact. avicidum* vom *Bact. gallinarum* sind wir früher schon eingegangen (Klimmer und Haupt); die Fähigkeit des *Bact. avicidum*, Saccharose zu spalten und Indol zu bilden, lassen eine Trennung leicht durchführen, da beide Eigenschaften dem *Bact. gallinarum* abgehen. Es sei an dieser Stelle erwähnt, daß auch das *Bact. pseudotuberculosis rodentium* (wie auch der Pestbazillus) Saccharose nicht zu spalten vermag und auch kein Indol bildet. Rhamnose und Arabinose werden vom *Bact. pseudotuberculosis rodentium* und vom *Bact. gallinarum* unter Säurebildung gespalten, während dies *Bact. avicidum* nicht vermag. Dulzit vermag von den angegebenen 3 Bakterienarten nur die Gallinarum-Variante des *Bact. gallinarum* zu vergären. Hinsichtlich

der Gärfähigkeit für Dextrin besteht leider eine offenbare Verschiedenheit der Präparate, die allein die vielfachen Widersprüche zu erklären imstande ist. Alkalibildung in Serum-Alkali-Albuminat-Agar geht nur dem *Bact. avicidum* ab, die anderen beiden Arten bilden es, wenschon das *Bact. pseudotuberculosis* und die Pullorum-Variante des *Bact. gallinarum* in geringem Maße. Das Verhalten des *Bact. pseudotuberculosis rodentium* in Bouillon wird verschieden geschildert; teils trübt es die Bouillon gleichmäßig, teils bildet es neben der Trübung Flocken, teils wächst es flockig unter Klarlassen der Bouillon und bildet dann zumeist ein mehr oder weniger zusammenhängendes Häutchen an der Oberfläche.

Das oben erwähnte Bacterium einer Meerschweinchenseuche (Branch) spaltet zum Unterschiede vom Pseudotuberkulosebazillus Dulzit, nicht aber Adonit und Arabinose. Das *Bact. Rettgeri* unterscheidet sich vom *Bact. pseudotuberculosis rodentium* durch den Mangel der Fähigkeit, Arabinose und Maltose zu spalten (Hadley nach Kelser); nach Angaben von John-Brooks und Rhodes bildet es im Gegensatz zu Hadleys Angaben Indol. Das ebenfalls von Hadley (zit. nach Kelser) beschriebene *Bact. Jeffersoni* stellt nach den Untersuchungen von John-Brooks und Rhodes eine Rough-Dissoziante des *Bact. gallinarum* im Sinne Arkwrights dar; es ist deshalb bei der vorliegenden Betrachtung unberücksichtigt geblieben.

Nach den Angaben der Literatur ergibt sich für die einander morphologisch nahe stehenden, bei Geflügel als Seuchenerreger beobachteten Stäbchen, die in der beifolgenden Tabelle angeführte Möglichkeit der Trennung; der Uebersicht ist das Verhalten des *Bact. coli*, des *Bact. Salmonella* und des *Bact. pestis* beigelegt. Die von Nagern stammenden Salmonellabakterien vergären stets Dulzit (Krumwiede, Valentine und Kohn), was für eine Erörterung der Möglichkeit der Abtrennung des Pesterregers bedeutungsvoll ist. Für den unmittelbaren Zweck der vorliegenden Untersuchung sei namentlich auf die Angaben innerhalb des starken Striches verwiesen. Daraus geht hervor, daß das biologische Verhalten gegenüber Saccharose, Adonit und Dulzit — soweit die Angaben der Literatur gehen — zur Trennung der 3 Bakterienarten: *avicidum*, *pseudotuberculosis rodentium* und *gallinarum* am aussichtsreichsten erscheint.

Es sei hier kurz darauf hingewiesen, daß die Differenzierung des Pest-erregers von dem *Bact. plurisepticum* durch dessen Eigenschaft, Saccharose zu vergären (die auch der von K. F. Meyer und A. B. Batchelder beschriebenen *Pasteurella muricida* zukommt), von den Pseudotuberkulosebazillen durch deren Spaltungsfähigkeit für Adonit und von den Nagersalmonellen durch deren Avidität für Dulzit möglich erscheint.

	Laktose	Saccharose	Adonit	Dulzit	Salizin	Arabinose	Maltose	Indol
<i>Bact. coli</i>	+	/	/	/	/	/	/	+
<i>Bact. avicidum</i>	—	+	—	—	±	—	±	+
„ <i>pseudotub. rod.</i>	—	—	+	—	+	+	+	—
„ <i>gallinarum gall.</i>	—	—	—	+	—	+	+	—
„ „ <i>pull.</i>	—	—	—	—	—	+	—	—
<i>Bact. Salmonella</i>	—	—	—	±	—	±	+	—
<i>Bact. pestis</i>	—	—	—	—	—	+	+	—

Unsere eigenen Versuche wurden durch die Untersuchung einiger Stämme von Bakterien veranlaßt, die wir aus Leber und Niere eines Truthahnes über die Gassnersche Platte gewonnen hatten. Der Truthahn war uns vom Veterinär-Pathologischen Institute zur ätiologischen Untersuchung zugestellt worden. Vorbericht und Zerlegungsbefund lauteten (auszugsweise) folgendermaßen: Der 4 Monate alte Truthahn hatte sich, bevor er früh im Stalle verendet gefunden worden war, etwas weniger munter und von den anderen Tieren getrennt gehalten. Die Zerlegung ergab neben einer Duodenitis catarrhalis acuta Abweichungen in Leber und Niere. „Die Leber erscheint vergrößert, braunrot, ist mäßig derb. Sie ist durchsetzt mit mehreren submiliaren grauweißen Herdchen, die sich histologisch als Wucherungen der Retikuloendothelien erweisen. Im Zentrum weisen diese Herdchen fast durchgehend Nekrose auf: sogenannte miliare Nekrosen (ähnlich wie bei Geflügelcholera). Die Nieren sind ebenfalls vergrößert, zeigen einen braunrötlichen Farbenton, mäßig derbe Konsistenz und dieselben submiliaren grauweißlichen Herde wie die Leber; sie sind hier sehr zahlreich vorhanden. Es handelt sich auch hier um im Interstitium gelegene submiliare sogenannte Nekroseherdchen. Die Milz ist ebenfalls vergrößert (Milztumor), zeigt eine hellrötlich-braune Farbe, verhältnismäßig weiche Konsistenz und enthält, wie die Leber und die Nieren, zahlreiche sogenannte submiliare Nekroseherdchen. An den übrigen Organen sind Veränderungen nicht festgestellt worden.“

Die diagnostische bakteriologische Untersuchung erstreckte sich auf Ausstriche auf einem Saccharose enthaltenden Alkali-Albuminat-Agar mit Indikator (Bromkresolpurpur) und auf Gassners Dreifarbenagar. Es gingen keine Saccharosevergärer auf; es war also *Bact. avicidum* nicht nachweisbar. Auf dem Gassnerschen Nährboden gingen nach 48 Std. sehr kleine, den Nährboden schwach gelb verfärbende Kolonien auf, von denen 7 einzelnstehende (2 aus Leber- und 5 aus Nierenmaterial) abgestochen wurden; sie wurden für eine spätere Prüfung aufgehoben. Nach dem Ergebnis des kulturellen Verhaltens und der mikroskopischen Untersuchung (gramnegative, unbewegliche Kurzstäbchen, die im natürlichen Gewebe nur in geringer Anzahl sichtbar waren und im mit Methylenblau gefärbten Ausstriche die Farbe vorzüglich an den Polen angenommen hatten) wurde die Vermutung ausgesprochen, daß es sich um ein unbewegliches Bakterium aus der Typhus-Paratyphus-Gruppe, vielleicht auch um den als Erreger der „Paracholera“ beschriebenen Bazillus handelt.

Als sich bei der 2 Monate nach der Isolierung begonnenen genaueren Untersuchung der 7 Stämme das eingangs geschilderte Verhalten gegen Salizin ergab, zogen wir sowohl aus „Paracholera“-Fällen als auch aus Fällen von Pseudotuberkulose der Nager gewonnene Stämme zu unseren weiteren Untersuchungen zu. In liebenswürdiger Weise wurden uns solche Stämme von Herrn Prof. Dr. Poppe in Rostock, von Herrn Dr. Lerche in Breslau und vom hiesigen Tierseucheninstitut (Dir.: Prof. Dr. Eber) überlassen. Insgesamt standen mir zur Verfügung:

- | | |
|---|---|
| 7 Stämme aus dem erwähnten Truthahne (L1 und L2; N1—N5) | |
| 3 Pseudotuberkulosestämmen „P“, „Nord“ und „Süd a“ (Herr Poppe) | |
| 2 Putenstämmen: 3317, 3357 | } (Herr Lerche) |
| 2 Hasenstämmen: 3485, 3574 | |
| 1 Meerschweinchenstamm 598 | } (Tierseucheninstitut, Dir.: Prof. Dr. Eber) |
| 1 Kanarienvogelstamm 481 | |
| 1 Hasenstamm 1523 | |
| 1 Putenstamm 313 | |
| sowie zum Vergleiche | |
| 1 Gallinarumstamm 1242 | } (dgl.) |
| 2 Pullorumstämmen 740 und 1344 | |
| 1 Geflügelcholera Stamm „H“ (Institutsstamm). | |

Die Spaltung von Saccharose, Dulzit, Arabinose, Adonit und Salizin wurde auf schräg erstarrtem Serumalkalialbuminatagar gleicher Herstellung untersucht, dessen wir uns bei der Isolierung von Streptokokken (Klimmer, Haupt und Roots) bedient haben. Die bei Salizin versuchsweise durchgeführte Verwendung von Serumwasser als Grundsubstrat (Herstellung s. Klimmer und Haupt), bot keine Vorteile; es wurde weiterhin nicht benützt. Der Zweizuckernährboden mit Bleiazetat nach Bailey und Lacy (Herstellung s. Klimmer und Haupt) wurde mit allen Stämmen beschickt; über das Verhalten von hier in Betracht kommenden Stämmen auf diesem Nährboden hat nur Branch berichtet; er fand Säurebildung in Säule und Schräge ohne Gasbildung.

Die Ergebnisse dieser Gärversuche sind folgende gewesen: Arabinose haben alle Stämme mit Ausnahme des *B. avicidum* vergoren; die Säurebildung trat deutlich und bereits nach 24 Std. auf. Nach 48 Std. war in allen Röhren deutliche Fällung des Eiweißes und Gelbfärbung aufgetreten. Saccharose ist nur von dem *Bact. avicidum* gespalten worden; keiner der übrigen Stämme hat aus diesem Kohlehydrat Säure zu bilden vermocht. Dulzit hat nur der Stamm *Bact. gallinarum gallinarum* 1242 vergoren.

Salizin wurde innerhalb 24 Std. von allen Stämmen mit Ausnahme der Stämme *Bact. gallinarum gallinarum* 1242, *Bact. gallinarum pullorum* 740 und 1344, *Bact. avicidum* H, Kanarienvogel 481, *Pseudotuberculosis* „Süd a“ und Pute 3317 gespalten; die Säurebildung trat deutlich als Gelbfärbung des Indikators, nach weiteren 24 Std. auch als Fällung des Eiweißes auf. Nach 120 Std. erfolgte noch bei Stamm Pute 3317 ein Umschlag des Salizzinnährbodens nach gelb und eine Ausfällung des Eiweißes, während bei den übrigen Stämmen, die nach 24 Std. den Nährboden unverändert gelassen hatten, auch im weiteren Verlaufe bis zu 14 Tagen ein Umschlag des Nährbodens nicht mehr zur Beobachtung kam. Salizin wurde demnach von den Pseudotuberkulosestämmen mit Ausnahme der 3 genannten (Kanarienvogel 481, *Pseudotuberculosis* Süd a und Pute 3317) innerhalb 24 Std. unter Säurebildung gespalten; Pute 3317 vermochte Salizin verzögert (nach 120 Std.) zu spalten; die Stämme Kanarienvogel 481 und *Pseudotuberculosis* Süd a vermochten in der gewählten Versuchsanordnung Salizin nicht unter Säurebildung zu zerlegen.

Die Unfähigkeit der Stämme Kanarienvogel 481 und Pseudotuberkulose Süd a, sowie die verminderte Fähigkeit des Stammes 3317, Salizin zu spalten, gab den Anlaß zu einer Untersuchung der Frage, in welchem Maße die Stämme Alkali zu bilden vermögen, und ob vielleicht eine starke Alkalibildung eine geringe Säurebildung der fraglichen Stämme aus Salizin zu verdecken vermag. Ein Nährsubstrat, das nur 0,3 Proz. Fleischextrakt und nur 0,5 Proz. Pepton enthielt (mit Bromkresolpurpur als Indikator) ergab Vergärung von Salizin durch die (Kontroll-) Stämme L 1, N 2 und Hase 1523, während außer den Stämmen Kanarienvogel 481 und Pseudotuberkulose Süd a auch der Stamm Pute 3317 innerhalb von 10 Tagen Salizin nicht zu spalten vermochte. Die Verminderung der Eiweißsubstanz hatte also die vielleicht vorhandene übermäßige Alkalibildung nicht so weit vermindert, daß die Säurebildung hervorgetreten wäre im Gegenteil die Wachstumsfähigkeit des Stammes 3317 so vermindert, daß auch bei diesem die Säurebildung nicht mehr auftrat. Um nun die Alkalibildung deutlich erkennen zu können, wozu der bisher verwendete Indikator nicht geeignet war, wurde in weiteren Versuchen Bromthymolblau als Indikator gewählt (1 Proz. einer 1,5proz. alkoholischen Lösung). Die oben genannten 6 Stämme zeigten bei Verwendung von Alkalialbuminatagar ohne Salizin eine starke Alkalibildung (Umschlag des Olivgrün nach Saftgrün, später nach Blau). Im Salizin enthaltenden Nährboden gleicher Zusammenhang

bildeten jedoch die drei Kontrollstämme (L 1, N 2 und 1523) kräftige Säure, ohne auch nur vorübergehend eine saftgrüne Verfärbung des Substrates auftreten zu lassen. Das Verhalten der 3 fraglichen Stämme war anfangs gleichartig: die Schräge wurde saftgrün, der untere säulenartige Teil des Nährbodens blieb olivgrün. Die beiden Stämme 481 und Süd a zeigten eine zunehmende Verfärbung der Schräge nach blau, die allmählich (vom 4. Tage an) auch auf die Säule übergrieff; der Stamm 3317 hingegen verfärbte bereits nach 48 Std. die Schräge wieder nach olivgrün und nach weiteren 24—48 Std. nach einem ausgesprochenen gelb. Eine Fällung des Eiweißes (Alkalialbuminat) trat jedoch bis zum 10. Tage nicht ein, während bei den Kontrollstämmen dies bereits nach 48 Stunden der Fall war. Durch diesen Versuch war festgestellt, daß die Stämme aus Serumalkalialbuminat große Mengen Alkali zu bilden vermögen und daß die Kontrollstämme aus Salizin soviel Säure abspalteten, daß nicht nur das Alkali gebunden, sondern überdies noch ein Überschuß von Säure verblieb, der den Indikator zum Umschlag nach gelb und im weiteren Verlaufe das Serum zur Fällung brachte. Der Stamm 3317 bildete nur geringe Säuremengen aus Salizin, die immerhin imstande waren, die bereits gebildeten Alkalimengen wieder abzustumpfen und darüber hinaus einen Umschlag des Indikators nach gelb zu verursachen, die aber nicht ausreichten, um das Serum zur Fällung zu bringen. Bei den Stämmen 481 und Süd a war eine Säurebildung aus Salizin nicht nachweisbar. Es muß offen bleiben, ob die Säuremenge so gering ist, daß sie von dem gebildeten Alkali abgestumpft wird oder ob überhaupt keine Säure aus Salizin abgespalten wird. Da Alkalibildung vorzüglich auf der Schräge des Nährbodens auftrat, so wurde Enlows Nährboden (weicher Agar, als Säule erstarrt, hohe Schicht) als Grundlage für weitere Gärversuche verwendet. Er besteht aus einer Lösung von 0,5proz. Pepton, 0,85 Proz. K_2HPO_4 und 0,1 Proz. Agar in Wasser, mit NaOH auf pH 7,0 eingestellt und mit Bromthymolblau versetzt. Dieser sehr weiche, gerade erstarrte Nährboden ohne Zuckerzusatz erfährt, mit den Stämmen beimpft keinerlei Veränderungen; der gleiche Nährboden mit 1 Proz. Salizin wird durch die 3 Kontrollstämme orange-gelb gefärbt, durch die 3 fraglichen unverändert gelassen (10 Tage). Dasselbe Verhalten zeigten die Stämme auf einem synthetischen Agar nach Simons (wässrige Lösung von Agar 2 Proz., NaCl 0,5 Proz., $MgSO_4$ 0,02 Proz., $(NH_4) H_2PO_4$ 0,1 Proz., K_2HPO_4 0,1 Proz., Natrium citr. 0,2 Proz., pH 6,8, Bromthymolblau, 1 Proz. Salizin): Die 3 fraglichen Stämme ließen den Agar unverändert, die 3 Kontrollstämme verfärbten ihn orange-gelb. Endlich versuchte ich noch einen flüssigen synthetischen Nährboden (Soc. of American Bacteriologists): $NH_4H_2PO_4$ 0,1 Proz., KCl 0,02 Proz., $MgSO_4$ 0,02 Proz., pH 7,0, Bromthymolblau, Salizin): Auf ihm war das Wachstum aller Stämme sehr gering. Die Kontrollstämme ließen eine geringe Verfärbung nach gelbgrün (schwache Säurebildung), die fraglichen Stämme keinerlei Veränderung erkennen.

Danach war der Versuch, eine Salizinspaltung der Stämme 481 und Süd a durch Verminderung der Nährbodenbestandteile nachzuweisen, die eine Alkalibildung begünstigen, als gescheitert anzusehen. Die Verminderung der Stickstoffquellen im Nährboden verursachte eine Herabsetzung der Vermehrungsenergie, in deren Folge sogar beim Stamm 3317, der auf einem reichen Nährboden noch die Salizinspaltung, wenn schon verzögert, erkennen ließ, Salizinspaltung ausblieb.

Adonit wurde innerhalb 24 Std. sehr wenig gespalten, erst nach weiteren 24 Std. trat im Nährboden mit Bromkresolpurpur eine Verfärbung nach gelblich-rot hervor, die am oberen Ende der Schräge in ein deutliches Gelb überging. Nach 72 Std. war bei allen Pseudotuberkulosestämmen, mit Ausnahme von

Kanarienvogel 481 und Pute 3317, die ganze Schräge des Nährbodens gelb und z. T. bereits trübe undurchsichtig (gefälltes Eiweiß). Der Stamm 481 ließ nur am obersten Teile der Schräge eine deutlich Gelbfärbung erkennen, während bei Stamm 3317 nur das obere Viertel deutlich gelb gefärbt war. Der Stamm Süd a unterschied sich nicht von den anderen Pseudotuberkulosestämmen. Weder das *Bact. avicidum* noch die drei Stämme *Bact. gallinarum* ließen irgend welche Abweichung des Nährsubstrates nach gelb auftreten.

Den Nährboden nach Bailey und Lacy färbten alle Pseudotuberkulosestämmen innerhalb 48 Std. gleichmäßig gelb; Gasbildung oder Schwarzfärbung (H_2S -Bildung) war nicht nachweisbar. Der *Avicidum*stamm färbte den Nährboden nach 4 Tagen gelb. Der Stamm *Bact. gallinarum pullorum* 740 färbte den Nährboden in 48 Std. ganz gelb, später (nach 96 Std.) die Schräge rot, er zerriß den Nährboden in der Säule (Gasbildung) und zeigte im Stiche eine braune Verfärbung (H_2S -Bildung). Die beiden anderen Stämme des *Bact. gallinarum* (*gallinarum* 1242 und *pullorum* 740) zeigten Rotfärbung der Schräge des Nährbodens.

Zusammenfassend ergaben die Untersuchungen im großen und ganzen eine Bestätigung der auf grund der Literaturangaben ausgesprochenen Vermutung. *Adonit* wird von allen Stämmen gespalten, die nach Lerche dem *Bact. pseudotuberculosis rodentium* zuzurechnen sind, während weder das *Bact. avicidum* noch das *Bact. gallinarum* dieses Kohlehydrat anzugreifen vermag. *Salizin* wird durch 16 der insgesamt untersuchten 18 Stämme des *Bact. pseudotuberculosis* vergoren, während weder die 3 untersuchten Stämme des *Bact. gallinarum*, noch der eine *Avicidum*stamm die Spaltung von *Salizin* bewirken. Es sei hier ausdrücklich darauf verwiesen, daß das *Bact. avicidum* nach Angaben Tanakas ein wechselndes Verhalten gegen *Salizin* aufweist. Bestätigt wurden die schon bekannten Angaben, daß das *Bact. avicidum* *Saccharose*, aber nicht *Arabinose*, und daß *Bact. pseudotuberculosis rodentium* und *Bact. gallinarum* *Arabinose* aber nicht *Saccharose* zu vergären imstande sind. *Dulzit* vermochte der eine Stamm von *Bact. gallinarum* var. *gallinarum* allein anzugreifen.

Von praktischem Werte erscheint namentlich die Vergärung von *Adonit* dann, wenn es sich um die nachträgliche Prüfung reingezüchteter Stämme handelt. Das Ergebnis ist in spätestens 72 Std. sicher gestellt und schließt bei positivem Ausfalle ohne weiteres die anderen ähnlichen Bakterien aus Geflügelseuchen aus. Andererseits bietet die Bildung von großen Säuremengen bei Verwendung von *Salizin* die Möglichkeit der schnellen Erkennung bereits nach 24 Std.; hierbei ist gleichzeitig zur Abtrennung von *Salizin* vergärenden *Avicidum*stämmen eine *Saccharose*gärprobe anzusetzen.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

1) Das *Bact. pseudotuberculosis rodentium* greift *Adonit* unter Säurebildung an; diese Eigenschaft kann zur Unterscheidung dieser Stämme von *Bact. gallinarum* und *Bact. avicidum* Verwendung finden. Die meisten Stämme des *Bact. pseudotuberculosis rodentium* vermögen *Salizin* unter Säurebildung zu spalten; diese Fähigkeit differenziert dieses Bacterium von *Bact. gallinarum*, unter Berücksichtigung der *Saccharose*-vergärung auch vom *Bact. avicidum*.

2) Hinsichtlich der Fähigkeit, *Arabinose*, *Adonit* und *Salizin* zu spalten, sowie der Unfähigkeit, *Laktose*, *Saccharose* oder *Dulzit* zu zerlegen, besteht

zwischen Stämmen des *Bact. pseudotuberculosis rodentium* aus Nagern und Stämmen aus Puten und Kanarienvögeln kein Unterschied.

Literatur.

Arkwright, J. A., Variation in bacteria in relation to agglutination by salts and by specific sera. *Journ. path. a. bact.* Vol. 23. 1920. p. 358. — Berlin, H., Untersuchungen über Säurebildung des Pestbazillus auf Zuckernährböden. *Hamburger Med. Ueberschäfte* 1914. S. 210; zit. nach Referat in *Centralbl. f. Bakt. I. Ref. Bd.* 63. 1915. S. 70. — Binder, L., Ueber die infektiöse Nekrose der Kanarien (auch „Kanariencholera“ genannt). *Wien. Tierärztl. Monatsschr.* Bd. 1. 1914. S. 337. — Branch, Arnold, Spontaneous infections of Guinea-pigs. *Journ. inf. dis.* Vol. 40. 1927. 533. — Bryner, A., Ein Beitrag zur Pseudotuberkulose der Vögel. (Inaug.-Diss.) Zürich 1906. — Edington, J. W., The bacteriological study of fowl typhoid and allied infections with special reference to three epidemics. *Journ. path. a. bact.* Vol. 27. 1924. p. 427. — Enlows, Ella M. A., A sugar free medium for fermentation studies. *Publ. Health Reports.* Vol. 38. 1923. p. 2129. — Frohböse, H., Beitrag zum biochemischen Verhalten der bipolaren Bakterien der hämorrhagischen Septikämie. *Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd.* 100. 1926. S. 213. — St. John-Brooks, Ralph, and Mabel Rhodes, The Organismus of the fowl typhoid group. *Journ. path. a. bact.* Vol. 26. 1923. p. 433. — Kelsner, R. A., *Manual of Veterinary Bacteriology.* Baltimore 1927. — Klimmer, M. und Haupt, H., Ueber Infektion von Hühnern mit dem *Bact. gallinarum* Klein (1889). *Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd.* 105. 1928. S. 99. — Klimmer, M., Haupt, H., und Roots, Elmar, Zur Trennung einiger in der Milch vorkommenden Streptokokken mit besonderer Berücksichtigung der Isolierung des *Str. agalactiae* Guillebeau. *Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd.* 107. 1928. S. 206. — Krumwiede, C., Kohn, L. A., and Valentine, E., Studies on the Paratyphoid-Enteritidis Group. V. The correlation of culture and agglutination results, with special reference to *B. paratyphosus* „B“ and *B. cholerae* suis. *Journ. med. res.* Vol. 38. 1918. p. 89. — Dieselben: dasselbe. IV. The separation of a distinct paratyphoid group among strains of rodent origin. *Ebenda.* Vol. 39. 1919. p. 449. — Lerche, Die „Paracholera“ der Puten und ihre Beziehungen zur Pseudotuberkulose der Nagetiere. *Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd.* 104. 1927. S. 493. — Meyer, K. F., and Batchelder, A. P., A disease in wild rats caused by *Pasteurella muricida* n. sp. *Journ. inf. dis.* Vol. 39. 1926. p. 385. — Plasaj, S., und Pribram, E., Zur Systematik der *Bacteria bipolaria*. *Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd.* 87. 1921. S. 1. — Poppe, K., Pseudotuberkulose. *Handb. d. path. Mikroorgan.* hrsg. v. Kolle, Kraus und Uhlenhuth, 3. Aufl. Bd. 4. Jena 1927. S. 413. — Saisawa, K., Vergleichende Untersuchungen über den Bazillus der Pseudotuberkulose. *Zeitschr. f. Hyg.* Bd. 73. 1913. S. 401. — Simmons, James S., A culture medium for differentiating organisms of Typhoid-colon aerogenes groups and for isolation of certain fungi. *Journ. inf. dis.* Vol. 39. 1926. p. 208. — Society of american bacteriologists: *Manual of Methods for pure culture study of bacteria.* Geneva 1923. — Tanaka, Asozo, A comparative study of pasteurille cultures from different animals. *Journ. inf. dis.* Vol. 38. 1926. p. 421. — Zeiß, Heinz, Ueber einige bei Tierkrankheiten gefundene Erreger aus der Gruppe der hämorrhagischen Septikämie und der Coligruppe. *Arch. f. Hyg.* Bd. 82. 1914. S. 1.

Nachdruck verboten.

Ueber den Einfluss parenteral gegebener Lipide auf die Hämolysinbildung bei Kaninchen.

[Aus dem Institut für exper. Therapie „Emil von Behring“ Marburg-Lahn.
(Leiter: Priv. Doz. Dr. H. Schmidt).]

Von Dr. med. **Hans Groß.**

In Fortführung unserer Versuche über die Frage der Wirkung von Lipoidstoffen auf die Antikörperbildung und angeregt durch Untersuchungen von Gaetgens über die Gewinnung hochwertiger präzipitierender Antisera durch Lipoiddarreichung, untersuchten wir den Einfluß parenteral gegebener Lipide auf die Hämolysinbildung bei Kaninchen.

In früheren Versuchen hatten wir im Gegensatz zu Surányi festgestellt, daß die orale Verabreichung von Lecithin und Cholesterin in täglichen Gaben von 1 g während der Zeit der Immunisierung auf die Hämolysinbildung keinen fördernden Einfluß ausübt. Gaehtgens fand, daß die spezifische Präzipitation in Gegenwart eines lipoidartigen Stoffes deutlich verstärkt und beschleunigt werden kann, ferner daß die Lipide auch die antigene Wirksamkeit der Eiweißkörper bei der Präzipitationsbildung im tierischen Organismus zu steigern im Stande sind. Es gelang ihm, bei der Behandlung von Kaninchen mit Gemischen aus Eiweißstoffen und Lipoiden, wie sie sich in den alkoholischen Fleischextrakten finden, nach Abzug der durch interkurrente Erkrankungen und Anaphylaxie bedingten Verluste, in 94 Proz. der Fälle hochwertige Antisera mit einem Präzipitationstiter von 1:20000 zu gewinnen. Von Dresel und Meißner wurden diese Beobachtungen nicht bestätigt.

Bevor wir auf unsere Lipoidversuche näher eingehen, seien kurz einige Untersuchungsergebnisse über die verschiedenen Immunisierungsmethoden bei der Ambozeptorherstellung mitgeteilt. Neben der Immunisierungstechnik spielen bei der Hämolysingewinnung vor allem individuelle Faktoren wie Alter und Rasse der Versuchstiere wichtige Rollen, die stets weitestgehend berücksichtigt werden müssen. Aus diesem Grunde empfiehlt sich für derartige Untersuchungen immer eine größere Zahl von Kaninchen zu verwenden. Von H. Groß wurde in umfangreichen Versuchen festgestellt, daß besonders das Alter und die Rasse der Kaninchen für die Ambozeptorbildung von Bedeutung sind, insofern als unter 1 Jahr alte Tiere weniger Hämolysine bilden, als ältere, ausgewachsene Kaninchen. In vielen Fällen haben die Sera der jungen Tiere einen um die Hälfte geringeren hämolytischen Titer als die älteren der gleichen Rasse. Nach unseren Untersuchungen eignen sich die belgischen Riesenkaninchen und Kreuzungen dieser mit grauen Landkaninchen, sowie weiße Riesenkaninchen und Kreuzungen derselben mit grauen Kaninchen (Schecke), sehr gut für die Ambozeptorgewinnung. Die braunen Hasenkaninchen verhielten sich der Immunisierung gegenüber weniger widerstandsfähig und ergaben auch keinen sehr hohen Serumtiter. Einen Einfluß des Geschlechts auf die Hämolysinbildung konnten wir nicht feststellen. Ferner ist die Fütterung von Wichtigkeit. Im Frühjahr und Sommer zur Zeit des Grünfutters ist die Hämolysinproduktion der Kaninchen eine bessere als im Winter bei Trockenfutter.

Was die Immunisierungstechnik angeht, so haben wir die üblichen Methoden einer vergleichenden Prüfung unterzogen. Als Versuchstiere dienten Kaninchen derselben Rasse und ungefähr gleichen Alters. Außer der intravenösen Behandlung der Kaninchen mit steigenden Mengen 5prozentiger Hammelerythrozytensuspension sind noch die intraperitonealen und die kombinierten Methoden von Boas, H. Sachs, Strempel, Schürmann, Fornet und Müller im Gebrauch. Uns hat sich eine kombinierte Immunisierungsmethode, bei der intraperitoneale und intravenöse Injektionen ausgeführt werden, als die beste erwiesen. Wir gehen dabei so vor, daß dem Tier an drei aufeinander folgenden Tagen 5—20 ccm einer 5 bzw. 10proz. Hammelerythrozytensuspension intraperitoneal in steigenden Mengen eingespritzt werden. Nach einer Pause von ca. 8—10 Tagen wird mit der intravenösen Behandlung begonnen, und zwar spritzt man am besten zuerst 2—3 ccm einer 3proz., nach 4 Tagen 3—4 ccm einer 4proz., nach weiteren 4 Tagen 4—5 ccm einer 5proz. und bei der 4. bzw. 5. Injektion 5 ccm einer 5proz. Hammelerythrocytensuspension. 8—10 Tage vor der Entblutung, die von uns lebend aus der Arteria femoralis vorgenommen wird, werden den Tieren nochmals 10 ccm einer 10proz. Hammelblutkörperchenaufschwemmung intraperitoneal injiziert. Es ist anzuraten, die intravenösen Einspritzungen stets sehr langsam auszuführen. Auf diese Weise sind

unsere durch Anaphylaxie bedingten Tierverluste in der Regel sehr gering, meistens gleich Null.

Um den Einfluß parenteral gegebener Lipide auf die Hämolysinbildung festzustellen, wählten wir 30 ausgewachsene Kaninchen der gleichen Rasse und ungefähr gleichen Alters. Diese wurden in der oben beschriebenen Weise mit Hammelerythrozyten immunisiert. 15 Tiere wurden mit Lipoidstoffen behandelt, 15 dienten als Kontrolle. Von den 15 Versuchstieren erhielten 5 Tiere Lecithin, 5 Cholesterin und 5 alkoholischen Rinderherzextrakt. Cholesterin und Lecithin kamen als 1proz. alkoholische Lösung zur Anwendung. Den Rinderherzextrakt haben wir so hergestellt, daß auf einen Teil Rinderherz 5 Teile 96proz. Alkohols kamen. Dieses Gemisch wurde ca. 14 Tage teils mit der Hand, teils im Schüttelapparat geschüttelt, dann filtriert und mehrere Wochen lang stehen gelassen. Die Kaninchen erhielten mit jeder Bluteinspritzung gleichzeitig 1 cem der Lipoidlösungen, die ca. 10 Min. vor der Injektion dem Hammelblut zugesetzt wurden. Durch Lecithin und Cholesterin trat eine Art Emulgierung der Blutzellen ein, die Suspension sah rotgelb aus, während der Rinderherzextrakt die Erythrozyten zum Teil haemolysierte. Im Gegensatz zu den reinen alkoholischen Lipoidlösungen wurden die Mischungen von Hammelblut und Lipoid von den Kaninchen recht gut vertragen. Ein Kontrolltier wurde wegen bedrohlicher anaphylaktischer Erscheinungen vorzeitig entblutet. Sonst blieben alle Tiere am Leben.

Das Ergebnis der Versuche war nun folgendes: Die 5 mit Cholesterin behandelten Kaninchen zeigten einen hämolytischen Durchschnittstiter von 1:6000 bis 1:8000, die Lecithintiere einen Titer von 1:4000 bis 1:5000 und die mit Rinderherzextrakt behandelten Kaninchen einen Seruntiter von 1:5000 bis 1:6000, während einige Kontrolltiere Sera mit einem Titer von 1:12000 und 1:24000 lieferten. Vergleicht man die Titerwerte der Versuchs- und Kontrolltiere, so wurde durch die Lipoiddarreichung keine Steigerung der Hämolysinproduktion erzielt; bei der Versuchs- und Kontrollgruppe wurde bei verschiedenen Seren ein gleichhoher, bei einigen Kontrolltieren sogar ein weit höherer Lysingehalt gefunden.

Aus diesen Versuchen geht somit hervor, daß die gleichzeitige parenterale Darreichung von Lipoidstoffen (Cholesterin, Lecithin oder Rinderherzextrakt) mit roten Hammelblutzellen auf die Hämolysinbildung keinen fördernden Einfluß ausgeübt hat.

Literatur.

Gaechtgens, Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 55. 1928. S. 3/4. — Dresel u. Meißner, ebenda. Bd. 53. 1927. H. 3/4. — Laubenheimer, Handb. d. pathog. Mikroorg. v. Kolle-Kraus-Uhlenhuth. Bd. 7. — GroB, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 108. 1928.

Nachdruck verboten.

Plasmakoagulase und Pathogenität der Staphylokokken.

[Aus dem Städtischen Hygienischen Universitäts-Institut zu Frankfurt a. M.]

Von Dr. med. **B. Kemkes**, Assistenzarzt.

Die Entdeckung Muchs (1) vom Jahre 1908, daß pathogene Staphylokokken eine spezifische koagulierende Wirkung auf Plasma haben, hat eine erhebliche Bedeutung für die Differenzierung der Staphylokokken.

Much untersuchte 7 Stämme von *St. aureus*, die er aus Menschenblut bei Septikämien, Phlegmonen und Abszessen gezüchtet hatte, bezüglich ihres Verhaltens im Menschenplasma und fand, daß sie nach einigen Stunden Aufenthalt im Brutschrank eine Gerinnung des Plasmas mit darauf folgender Wiederauflösung herbeizuführen imstande waren, während mehrere *Albi*, neben anderen Keimen aus Leichenblut und Abszessen gezüchtet, ferner ein *Citrus* sowie verschiedene andere Bakterienarten (*Streptococcus erysipelatos*, *Pneumokokkus*, *B. typhi*, *B. coli commune*, *B. Friedländer*, *Proteus* und *Milzbrand*) keine Plasmagerinnung gaben. Ein *Aureus*-Stamm aus der Luft des bakteriologischen Laboratoriums des pathologischen Instituts, von dem anzunehmen war, daß er ebenfalls aus einem pathologischen Herd stammte, verhielt sich gleichfalls plasmakoagulasepositiv. Dabei kam es nicht wesentlich auf die Menge der verwandten Bakterien an. Es ergab sich ferner kein Unterschied zwischen sogenanntem L-Plasma, in welchem Leukozyten suspendiert waren bzw. zellfreiem Plasma und zwischen verdünntem Natriumzitratt-, verdünntem Natriumfluorid- und verdünntem Hirudinplasma. Much arbeitete dabei mit Menschen-, Pferde- und Hammelplasma, wobei sich das Blut verschiedener Hammel recht inkonstant verhielt. Er hatte somit eine für den pathogenen *St. aureus* spezifische Reaktion angegeben. Much bezeichnete das gerinnungsmachende Agens als Staphylokinase entsprechend der Thrombokinase bei der Blutgerinnung. Diese Auffassung von der Natur des Gerinnungsfermentes des Staphylokokkus wurde von anderer Seite nicht geteilt. Es soll jedoch hier auf den theoretischen Teil des Vorganges bei der Plasmagerinnung nicht weiter eingegangen werden.

Mit Much übereinstimmende Ergebnisse veröffentlichte Zeißler (2), der seine Untersuchungen auf Hammel-, Rinder- und Schweineplasma ausdehnte.

Kleinschmidt (3) kam zu dem Ergebnis, daß jeder Stamm von *St. aureus* imstande sei, innerhalb kurzer Zeit Plasma (Pferdeplasma) zum Gerinnen zu bringen. Auch viele *Albus*-Stämme haben nach ihm diese Eigenschaft, doch sei die Wirkung graduell verschieden. Die Reaktion sei an die Leiber der lebenden Staphylokokken gebunden, da keine Wirkung mit Bouillonkulturfiltraten (5 Tage bei 37° C, dann filtriert durch Berkefeld-Filter) erzielt wurde.

Weitere eingehende Untersuchungen über die Plasmakoagulase stellten v. Gonzenbach und Uemura (4) an. Sie verwandten Kaninchenplasma, das sie am leichtesten koagulabel fanden, mit einem 1promill. Zusatz von Natriumoxalat. Sie berichten, daß die vergleichende Untersuchung von fünf Stämmen von *St. pyogenes aureus* verschiedener Herkunft, in lebendem und durch Hitze abgetöteten Zustand, qualitativ gleiches Verhalten mit quantitativen Schwankungen in der Wirkung der einzelnen Stämme ergab, und zwar so, daß stets Gerinnung eintrat, gefolgt von Wiederverflüssigung des Gerinnsels,

in rascherer Folge beim Versuch mit lebenden, zeitlich verzögert beim Versuch mit abgetöteten Kokken. Bei Hammel- und Ziegenplasma erfolgte keine Wiederauflösung.

In neuerer Zeit berichtet v. Darányi (5) über Untersuchungen auf diesem Gebiete. Er fand, daß 80 verschiedene, aus der Umgebung und von der gesunden Haut stammende Staphylokokken keine Gerinnung des Zitratplasmas (Kaninchen), jedoch 30 aus verschiedenen Eiterungsprozessen gezüchtete Staphylokokken Gerinnung verursachten. Er beobachtete eine Zitratblutgerinnung nicht nur bei Aureus-Stämmen, sondern auch bei Albi aus tierischen Eiterungen. v. Darányi betont, daß die Wichtigkeit dieser für den pathogenen Staphylokokkus typischen Reaktion noch nicht genügend beachtet wird, und daß diese Reaktion immer viel mehr besagt und viel regelmäßiger verläuft als die übrigen fermentativen Reaktionen.

Dieselben Ergebnisse hatte Groß (6), der nach v. Darányi Kaninchenzitratblut verwandte. Während er bei saprophytischen Staphylokokken nie Koagulase fand, bestätigte auch er, daß die Plasmagerinnung eine für Aureus-Stämme charakteristische Fermentreaktion darstellt, daß jedoch auch pathogene Albus-Stämme gelegentlich positive Reaktion geben, allerdings spärlicher und langsamer. Andere von Groß auf Koagulase untersuchte Bakterienarten (Strepto-, Gono-, Pneumo- und Meningokokken, *Micrococcus melitensis*, Typhus-, Paratyphus-, Dysenterie-, Milzbrand-, *Pyocyaneus*- und *Proteus*-Bazillen) verhielten sich alle negativ.

Bei der Bedeutung der Reaktion habe ich mich auf Anregung meines Chefs, Herrn Geh. Medizinalrat Prof. Dr. M. Neisser, in größerem Umfange mit ihr beschäftigt und glaube darüber berichten zu dürfen, zumal ich bezüglich der großen Gruppe der „Umgebungsstaphylokokken“ zum Teil andere Ergebnisse habe als die vorgenannten Autoren, indem ich nämlich, wie unten näher ausgeführt, in dieser Gruppe in einem hohen Prozentsatz „plasmakoagulase-positive“ Staphylokokken habe.

In Anlehnung an die Versuche von v. Gonzenbach und Uemura verwandte ich Ipmill. Natrium-Oxalatplasma vom Kaninchen. Bei der Gewinnung des Plasmas hielt ich mich an die von den vorerwähnten Autoren angegebene Technik. Ebenso legte ich bei jedem Versuche sowie bei der Beurteilung des Ergebnisses das von ihnen angegebene Schema zugrunde, indem ich zu je 0,5 cem Plasma fallende Mengen Staphylokokkenkulturen hinzufügte, und zwar in den Mengen 0,2, 0,1, 0,05, 0,01 und 0,005 cem eines mit 5 cem physiol. NaCl-Lösung abgeschwemmten 24stünd. Agarröhrchens. Als Kontrolle nahm ich ebenfalls je ein Röhrchen mit 0,5 cem Plasma sowie 0,5 cem Plasma plus 0,5 physiol. NaCl-Lösung. Die Reaktion wurde beobachtet nach 1, 3, 7, 24, 48 und 72 Std. Als „plasmakoagulasepositiv“ wird im folgenden eine Reaktion bezeichnet, die nach einigen, meist 3—7 Std. eine vollständige Gerinnung des Plasmas zum mindesten in einem Röhrchen zeigte. Meist jedoch trat Gerinnung in mehreren Röhrchen ein.

Was zunächst die Spezifität der Reaktion anlangt, so kann auch ich bestätigen, daß andere Bakterienarten eine Gerinnung des Plasmas nicht herbeiführen vermögen. Ich untersuchte in erster Linie mehrere Arten mit tryptischem Vermögen, von denen man hätte annehmen können, daß sie auch koagulierend wirken könnten, so *Pyocyaneus*, *Fluorescens*, *Prodigiosus*, Milzbrand, Heubazillus, Cholera, Sarzinen und Wurzelbakterien; sie waren jedoch alle plasmakoagulasenegativ. Ebenso verhielten sich Typhus, Flexner, Shiga-Kruse, Diphtherie, Pseudodiphtherie, Gonokokken und ein Stamm Scharlachstreptokokken Friedemann. Die Reaktion ist also augenscheinlich für Staphylokokken spezifisch.

Weitere Versuche stellte ich an mit 42 aus nachweisbar pathologischen Herden stammenden Staphylokokken. Die Reaktion war in allen Fällen ausgesprochen positiv. Von diesen Stämmen stammten 25 aus Furunkel (einschließlich Erkrankungen, wie septische und chronische Furunkulose, Staphylomykose, Pyodermie und Pustulose) und 17 von anderen Staphylokokkenerkrankungen (Achseldrüsen-, Brustdrüsen- und Schweißdrüsenabszeß, subphrenischer Abszeß, Pleuraexsudat, Osteomyelitis, Nasennebenhöhlen-eiterung, Otitis med. ac., Sepsis, Septikämie, Eiter). Hervorzuheben ist dabei einmal, daß davon ein aus einem Furunkel stammender Sammlungsstamm über 10 Jahre alt war und trotzdem starke Koagulase machte. Ferner ist bemerkenswert, daß sich unter den Furunkelstämmen 3 Albi und ein Citreus, unter den anderen Stämmen ein Albus (aus Abszeßeiter) und zwei Citrei (aus Schweißdrüsenabszeß und Nasennebenhöhleneiterung) befanden. Alle anderen Stämme waren typische Aurei.

Es waren also sämtliche aus einem pathologischen Herd stammenden Staphylokokken plasmakoagulasepositiv.

Ich untersuchte ferner 89 „Umgebungsstaphylokokken“ bezüglich ihrer Wirkung auf das Plasma. Es waren dies: 15 von gesunder Nasenschleimhaut mehrerer Personen, 23 von verschiedenen Stellen der gesunden Haut mehrerer Personen, 2 vom Haar (Kopfhaar und Schnurrbart) zweier Personen, 10 aus der Luft (bakteriolog. Laboratorium, Tierstall, Wohnzimmer, aseptischer und septischer Operationssaal der Chirurgischen Klinik), 23 vom Meerschweinchen (Haut, Haar usw.) und 9 aus der Bauchhöhle operierter Meerschweinchen¹⁾, 3 aus Urin, 2 aus Lymphe, 1 aus Schweinedarm und 1 aus Furunkulose mit „gefransten“ Kolonien. Von diesen 89 Stämmen waren 37 ausgesprochen plasmakoagulasepositiv, weitere 3 schwach positiv (die Koagulation war nicht vollständig, dabei auch zeitlich verzögert) und die anderen 50 Stämme negativ (s. Tab. I). Es waren dabei alle Albi sowie alle Cerei—albi und ein Citreus

Tabelle I.

	Zusammen	Davon Plasma-koagulase		
		pos.	schwach pos.	neg.
A. Nachweisbar pathogener Herkunft	42	42	—	—
a) Furunkel (einschl. septische und chronische Furunkulose, Staphylomykose, Pyodermie, Pustulose).	25	25	—	—
b) Andere St.-Erkrankungen.	17	17	—	—
B. „Umgebungsstaphylokokken“.	89	37	2	50
a) Nasenschleimhaut	15	9	—	6
b) Haut	23	11	—	12
c) Haar	2	2	—	—
d) Luft	10	2	—	8
e) Urin	3	—	—	3
f) Lymphe	2	1	—	1
g) Meerschweinchen	23	11	1	11
h) Bauchhöhle operierter Meerschweinchen	9	1	1	7
i) Schweinedarm	1	—	—	1
C. St. albus non haem. mit „gefransten“ Kolonien	1	—	—	1

1) Gezüchtet gelegentlich vorgenommener Nachprüfungsversuche der Versuche von Geisse. Näheres s. meine Arbeit: „Ist die Erzielung pathogener Eigenschaften bei saprophytischen Staphylokokken nach Geisse möglich?“ Der Zeitschr. f. Hyg. in Druck gegeben.

negativ, ferner fast alle Aurei-albi negativ (mit zwei Ausnahmen, den schwach positiven Stämmen), die Aurei teils positiv, teils negativ.

In dieser Hinsicht habe ich ein wesentlich anderes Ergebnis als v. Darányi und Groß, die ja nie bei saprophytischen Staphylokokken positive Plasma-koagulase gesehen haben.

Angesichts dieser Befunde erhob sich die Frage, ob die Plasmakoagulase-reaktion¹⁾ nur beim negativen Ergebnis verwertbar sei in dem Sinne, daß es sich dann nicht um einen pathogenen Staphylokokkus handeln könne, während man beim positiven Ausfall der Reaktion vielleicht nicht berechtigt sei, ohne weiteres auf die Pathogenität des Stammes schließen zu dürfen. Als Maßstab für diese verwandte ich einmal die Kniegelenkspathogenität im Versuch nach Dreyer (7) (2 Oesen einer 24stünd. Bouillonkultur in 1,0 ccm Bouillon ins Kniegelenk des Kaninchens gespritzt) und ferner die Hämolsinproduktion. Daß hierfür die Plattenhämolysen, d. h. also die Erzeugung eines hämolytischen Hofes um die lebende Kolonie nicht maßgeblich ist, ist als endgültig anzusehen [M. Neisser (8)]. Ich habe jedoch auch die Filtrathämolysen nach Neisser-Wechsberg nicht angewandt, weil die Kerzenfiltration bekanntlich die Hämolysen stark abschwächt. Ich bin statt dessen ähnlich wie H. Oppenheimer (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 59. 1911. S. 188) vorgegangen: Es wurde Trypsin-Stammbouillon im Kolben bei großer Oberfläche mit 1 Oese einer frischen Agarkultur beimpft, bei 37° C bebrütet, nach im allgemeinen 6 bis 10 Tagen scharf zentrifugiert, die überstehende Flüssigkeit abpipettiert und

Tabelle II.

Lauf. Nr.	Bezeichnung	Herkunft	Diagnose	Plasma- koagulase	Versuch nach Dreyer	Zentrifugat- Hämolsin wirksam bis ccm
1.	Va. 211	Sept. Furunkulose	St. aur.	+	+	
2.	G. 1	Luft, Labor	„ alb.	—	—	
3.	G. 2	„ „ „	„ „	—	—	
4.	Luft 3	„ „ asept. Op.-S. Chir.	„ aur.	—	—	— ²⁾
5.	Luft 15	„ „ sept. Op.-S. Chir.	„ „	+	+	0,2
6.	Luft Z. Sch. ²⁾	„ „ Wohnzimmer Sch.	„ „	+	+	0,1
7.	G. 3	Hand	„ alb.	—	—	
8.	G. 4	„	„ „	—	—	
9.	H. F.	„	„ aur.	+	+	0,02
10.	V. 1. 2	„	„ „	+	+	0,04
11.	V. 2. 2	Gesicht Sch. ³⁾	„ „	+	+	0,04
12.	V. 2. 11	Bein Sch. ³⁾	„ „	+	+	0,02
13.	H. A.	Haar	„ „	+	+	0,02
14.	H. W.	„	„ „	+	+	0,2
15.	Na. 1. 3	Nase Sch. ³⁾	„ „	+	+	0,05
16.	Na. 2. 10	„	„ „	erst —, nach Tier- passage +	+	

1) Ich habe nur Stämme berücksichtigt, die mikroskopisch und kulturell von den typischen Staphylokokken nicht abweichen, da ja nur diese St. differentialdiagnostisch Schwierigkeiten machen können.

2) Zweimal geprüft (nach 6 und nach 10 Tagen).

3) Die vier mit „Sch.“ bezeichneten Stämme kommen von gesunder Haut bzw. Schleimhaut einer zur Zeit der Züchtung der Stämme an recidivierenden Abszessen und Furunkeln leidenden Laboratoriumsassistentin.

karbolisiert (5,0 cem einer 5proz. Karbolsäure auf 100,0 cem), im Eisschrank aufbewahrt.

Der Virulenzversuch nach Dreyer wurde mit 16 verschiedenen Stämmen gemacht (vgl. Tab. II). Zusammenfassend läßt sich darüber sagen:

Bei 15 Stämmen besteht volle Uebereinstimmung zwischen dem Ergebnis der Plasmakoagulase und der Pathogenität in dem genannten Tierversuch. Bei einem Stamm, einem *St. aureus* haem. von gesunder Nasenschleimhaut bestand eine solche zunächst nicht, indem die Plasmakoagulase zunächst negativ war, der Virulenzversuch aber positiv ausfiel. Nachdem der Stamm jedoch wieder aus dem Kniegelenk herausgezüchtet war, verhielt er sich im erneut vorgenommenen Plasmakoagulaseversuch positiv (in Tab. I daher als positiv gezählt). Eine Erklärung dafür könnte in der Qualität des Plasmas liegen, das ja nicht immer gleich gut ist, vielleicht aber auch darin, daß dieser Stamm durch die Tierpassage erst eine gewisse „Anzüchtung“ erfahren mußte, um im Plasmakoagulaseversuch wirken zu können.

Volle Uebereinstimmung bestand ferner bei 10 vorgenommenen Versuchen zwischen dem Ergebnis des Plasmakoagulaseversuchs, der Kniegelenkspathogenität und dem Zentrifugat-Hämolysinbildungsvermögen (vgl. Tab. II).

Es ist somit die oben aufgeworfene Frage dahin zu beantworten, daß die Plasmakoagulase nicht nur in ihrem negativen sondern in weitgehendem Maße auch in ihrem positiven Ergebnis zu verwerten ist, indem sie über die Apathogenität oder Pathogenität eines Staphylokokkenstammes Aufschluß zu geben vermag.

Es geht weiter aus den Versuchen hervor, daß die Verbreitung des typischen *Staphylococcus pyogenes* größer ist, als es vielfach angenommen wird.

Zur Beantwortung der Frage, ob eine positive Plasmakoagulasereaktion auch durch tote Staphylokokken hervorgerufen werden kann, machte ich ferner je 7 Versuche mit Bouillonkulturfiltraten (1 und 5 Tage bei 37° C, dann filtriert durch Chamberland-Kerzen), ferner mit durch Aether¹⁾ sowie durch Hitze (1 Std. bei 65° C) abgetöteten typischen plasmakoagulasepositiven Staphylokokken. Ich konnte in keinem Falle eine Koagulase beobachten, so daß auch ich der Ansicht bin, daß die Reaktion an den lebenden Staphylokokkenleib gebunden ist.

Schließlich lag der Gedanke nahe, zu untersuchen, ob es im Serum einen Stoff gibt, der die koagulierende Wirkung der Staphylokokken zu hemmen vermöchte. Ich stellte mehrere Versuche an, indem ich zu dem Plasma fallende Mengen Serum zu einer wirksamen Dosis verschiedener plasmakoagulasepositiver Staphylokokken hinzufügte, und zwar zunächst normales Menschen- und normales Pferdeserum. Es war durch die genannten Sera keine Beeinflussung der Koagulation zu beobachten, weder im Sinne der Aufhebung noch der Verzögerung. Einige weitere derartige Versuche stellte ich mit dem Serum von 5 verschiedenen, an Staphylokokkenkrankungen (3mal Osteomyelitis und 2mal chronische Furunkulose) leidenden Patienten an. 4 dieser Sera prüfte ich im Vorversuch auf ihren Antistaphylolysingehalt. Dieser war bei allen stark erhöht (wirksam bis zu einer Menge von 0,01 bzw. 0,035 cem). Auch durch diese Sera war eine Beeinflussung der Koagulation in keiner Weise festzustellen. Es geht somit aus den Versuchen hervor, daß es offenbar weder im normalen Menschen- oder Pferdeserum noch im antistaphylo-

1) Eine 24stünd. Schrägagarkultur mit 5 cem physiol. NaCl-Lösung abgeschwemmt, die Abschwemmung mit etwa derselben Menge Aether im Fläschchen überschichtet und gut verschlossen 2 Tage bei 37° C gehalten. Sodann den Aether im Brutschrank verdunsten lassen und Sterilitätsprobe anlegen.

lysinhaltigen Menschenserum von Staphylomykotikern einen Stoff gibt, der die Plasmakoagulase zu hemmen vermag.

Zusammenfassung.

1) Die positive Plasmakoagulasereaktion (Pl.-K.-R.) konnte nur mit pyogenen Staphylokokken, dagegen nicht mit anderen Bakterienarten hervorgerufen werden. — 2) Sämtliche 42, aus einem pathologischen Herde stammenden Staphylokokken erwiesen sich als plasmakoagulasepositiv (pl.-k.-pos.). — 3) Von 89 „Umgebungsstaphylokokken“ erwiesen sich 50 Stämme als pl.-k.-negativ, 2 als schwach pl.-k.-pos. und 37 als ausgesprochen pl.-k.-pos. — 4) Das Ergebnis der Pl.-K.-R. von 16 bzw. 10 verschiedenen Stämmen wurde mit dem Ergebnis der Virulenzprüfungsmethode nach Dreyer und dem „Zentrifugat“-Hämolysinbildungsvermögen dieser Stämme verglichen. Die Versuche zeigen, daß die Pl.-K.-R. in ihrem negativen und positiven Ausfall in weitgehendem Maße zu verwerten ist, indem sie über die Apathogenität oder Pathogenität eines Staphylokokkenstammes Aufschluß gibt. — 5) Die Verbreitung der typischen pyogenen Staphylokokken ist größer, als es vielfach angenommen wird. — 6) Weder mit normalem Menschen- und normalem Pferdeserum noch mit antistaphylolysinhaltigem Menschenserum von Staphylomykotikern war es möglich, die Plasmakoagulase zu hemmen.

Literatur.

1) Much, H., Ueber eine Vorstufe des Fibrinfermentes in Kulturen von *Staphylococcus aureus* (Biochem. Zeitschr. Bd. 14. 1908). — 2) Zeißler ref. bei Gonzenbach u. Uemura. — 3) Kleinschmidt, H., Fibrinbildende und -auflösende Wirkung von Staphylokokken (Staphylokinase und Staphylofibrinolyse). (Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 3. 1909.) — 4) Gonzenbach, W. v., u. Uemura, H., Beiträge zur Gerinnung von Plasma durch Wirkung des *Staphylococcus pyogenes aureus* (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 78. 1916). — 5) Darányi, J. v., Pathogenität und Einteilung der Staphylokokken (Ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 99. 1926). — 6) Groß, H., Ueber Virulenz und Virulenzprüfungsmethoden von Staphylokokken (Klin. Wochenschr. 1927. Nr. 48). — 7) Dreyer, L., Ueber Virulenzprüfung mittels intraartikulärer Impfung (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 67. 1913). — 8) Neisser, M., Die Staphylokokken (Handb. d. pathogen. Mikroorganism. von Kolle-Kraus-Uhlenhuth. Bd. 4. 1927.)

Nachdruck verboten.

Ueber den Ruhrbazillus Kruse-Sonne.

[Aus der bakteriologisch-hygienischen Abteilung
des Städtischen Hygienischen Universitäts-Instituts Frankfurt a. M.]

Von **H. Braun** und **A. J. Weil**.

Mit 5 Abbildungen im Text.

In seinen grundlegenden Untersuchungen über die Pseudodysenteriebazillen hat Kruse mit seinen Mitarbeitern die Rasse E als Ruhrerreger beschrieben. Diese zeichnet sich nach seinen Untersuchungen dadurch von den übrigen Rassen der Pseudodysenteriebazillen aus, daß sie Milch koaguliert und sich serologisch anders als die übrigen Rassen verhält.

In der deutschen Literatur finden sich wenige Mitteilungen über die Rasse E, dagegen ist dieser Bazillus als Ruhrerreger im Auslande häufig beobachtet worden. Von deutschen Arbeiten über das Vorkommen der Rasse E möge vor allem die Veröffentlichung von Hilgers aus dem Kruseschen Laboratorium erwähnt werden. Im Auslande ist die Aufmerksamkeit auf diesen Bazillus durch die Arbeit von Sonne (Dänemark) gelenkt worden. Sonne hat die milchzuckerspaltenden Ruhrbazillen, unter dem besonderen Hinweis auf die kulturelle und serologische Sonderstellung, als Gruppe III innerhalb seiner Paratyphenteriebazillen eingeordnet.

Thjøtta bestätigte die Befunde von Sonne in Norwegen, Øhnell in Schweden. Nach den Arbeiten dieser Autoren muß mindestens $\frac{1}{3}$ der Ruhrerkrankungen in den skandinavischen Ländern auf das Bakterium der Gruppe III Sonnes zurückgeführt werden.

In England hat Andrewes auf die milchzuckerspaltenden Ruhrbazillen aufmerksam gemacht, wobei er allerdings indolbildende und nicht indolbildende, langsam und sehr schnell milchzuckerspaltende Stämme in eine Gruppe (*Bacillus dispar*) zusammenfaßte, während alle früheren Untersucher für die Milchzuckerrasse den Mangel an Indolbildung für charakteristisch erklärten und die Milchzuckerspaltung als eine langsame bezeichneten.

Im Auslande wird diese Milchzuckerrasse meistens „*Bacillus Sonne*“ genannt. (Kinloch, Smith, Fraser, Kinloch und Smith, Bamforth, Wiseman, Fyfe). Das Verdienst Kruses an der Auffindung dieses Ruhrbazillus darf nicht vergessen werden. Deshalb halten wir es für richtiger, diesen Erreger als *Bacillus Kruse-Sonne* zu bezeichnen.

Auch aus Japan (Mita, Murakami), aus Australien (Patterson und Williams) und aus Aegypten (Pery und H. J. Benstedt) sind Mitteilungen über diesen Ruhrerreger gemacht worden.

Neuerdings ist auch in Deutschland von einem gehäuften Auftreten von Ruhrfällen, hervorgerufen durch den Kruse-Sonne-Bacillus, berichtet worden, und zwar von Elkeles und Schneider und von Leuchs und Plochmann.

Eine sorgfältige Untersuchung des fermentativen Stoffwechsels und des serologischen Verhaltens des Kruse-Sonne-Bazillus findet sich in der Arbeit von V. Lester aus dem Madsen'schen Institut.

In den letzten 2 Jahren 1926 und 1927 haben auch wir ein gehäuftes Auftreten von Dickdarmentzündungen, hervorgerufen durch den Kruse-Sonne-Bazillus, festgestellt.

Die Erfahrungen, die wir bei der Diagnostik dieses Ruhrerregers gesammelt haben, möchten wir im Folgenden mitteilen. Wir haben 32 Stämme des *Bacillus Kruse-Sonne* eingehend untersucht.

Braun und seine Mitarbeiter haben in wiederholten Veröffentlichungen auf die Schwierigkeiten hingewiesen, die sich bei der Diagnose der sogenannten Flexner-, Y- und Strong-Bazillen und der Pseudodysenteriebazillen ergeben. Sie zeigten, daß sowohl die Einteilung in Flexner-, Y- und Strong-Bazillen, als auch in verschiedene Rassen der Pseudodysenteriebazillen unbrauchbar ist, und daß eine Klärung in der Klassifikation der Ruhrbazillen nur dann möglich ist, wenn die Ruhrerreger nach ihren kulturellen Eigenschaften nach Arten und Rassen gesondert werden. Braun und seine Mitarbeiter haben die Gruppe der Colitisbazillen aufgestellt und ihre Eigenschaften genau beschrieben. Die Rasse E rechneten sie nicht zu den Colitisbazillen, da diese in mehreren Eigenschaften von den Colitisbazillen abweicht. Braun rechnete sie zu den „colitisähnlichen“ Bakterien.

Seitdem aber eigene Erfahrungen und die inzwischen bekanntgewordenen Berichte, die wir oben zitiert haben, bewiesen haben, daß die Rasse E ein Ruhr-

erreger ist, mußte besonders eingehend geprüft werden, ob man den *Bacillus* Kruse-Sonne doch zu den Colitisbazillen zurechnen muß, oder ob es sich um eine besondere Bakterienart handelt. Es möge gleich vorweggenommen werden, daß wir auf Grund unserer Untersuchungen die Ansicht vertreten, daß es sich bei dem Kruse-Sonne-Bazillus um eine besondere Bakterienart handelt, die man ohne Schwierigkeit auf Grund kultureller Merkmale sowohl von den Shiga-Kruse-Bazillen als auch von den Colitisbazillen unterscheiden kann. Die Bezeichnung *Bazillus* Kruse-Sonne ist aus diesem Grunde gerechtfertigt. Wir sprechen deshalb absichtlich nicht von einer Rasse (Rasse E, Milchwuckerrasse). Uebrigens ist die Bezeichnung Milchwuckerrasse auch aus dem Grunde nicht zweckmäßig, weil die Spaltung des Milchwuckers durch dieses Bakterium nicht das einzige kulturell differente und auch nicht das praktisch wichtigste Unterscheidungsmerkmal darstellt, wie aus unseren weiteren Ausführungen zu ersehen sein wird.

Wir wollen nun im Folgenden das biologische Verhalten des Ruhrbazillus Kruse-Sonne eingehend beschreiben.

Morphologisch unterscheidet sich bekanntlich dieser Bazillus nicht von anderen Ruhrbakterien. Es handelt sich um ein gramnegatives, unbewegliches, nicht sporenbildendes Stäbchen.

Es ist wichtig, die Beweglichkeit stets in flüssigen, bei 22° gezüchteten Kulturen zu prüfen. Wie wir schon mehrfach darauf aufmerksam gemacht haben, kommen im Stuhl Bakterien vor, die mit Ruhrbazillen in kultureller Hinsicht große Ähnlichkeit haben. bei 37° gezüchtet unbeweglich, dagegen bei 22° kultiviert beweglich sind. Erinnert sei hier an die Arbeit von R. Neustadtl. Dieser Autor empfiehlt zur Prüfung der Beweglichkeit mancher Bakterien der Coligruppe die Untersuchung einer Aufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung oder in Nährbouillon, die von einer bei 37° gewachsenen Schrägagrarkultur bereitet und dann bei Zimmertemperatur 20—24 Stunden stehen gelassen wird.

Sehr wichtig ist bei dem Ruhrbazillus Kruse-Sonne die Kolonieförmigkeit. Darauf haben bereits Mita, Ørskov und Larsen, Lester, Fyfe, Leuchs und Plochmann aufmerksam gemacht. Diese Autoren haben berichtet, daß die Ruhrbazillen Kruse-Sonne in 2 verschiedenen Kolonieförmigkeiten auftreten können und zwar 1) in runden, glattrandigen, gewölbten Kolonien und 2) in flachen, gezähnten Kolonien. Leuchs und Plochmann bezeichnen diese beiden Formen als g-(gewölbt) Form und als fl-(flach) Form. Diese beiden Autoren und Ørskov und Larsen haben außerdem die sehr wichtige Feststellung gemacht, daß sich die beiden Kolonieförmigkeiten serologisch verschieden verhalten. Wir werden darauf noch zu sprechen kommen.

Wir können diese Angaben bestätigen. Auch wir fanden, daß Kulturen, die von flachen Kolonien gewonnen waren, Bakterien enthielten, die nur in flachen, niemals in runden Kolonien wuchsen. Dagegen entwickeln sich aus den runden Kolonien Flachkolonien. Man kann, wenn man Plattensätze von solchen runden Kolonien macht und diese mehrere Tage bebrütet, alle Uebergänge von runden zu flachen Kolonien beobachten. Bereits nach 24-std. Bebrütung finden sich unter den runden Kolonien einige, die an einer Stelle des glatten Randes aussprießen, sodaß häufig Formen auftreten, die eine Ähnlichkeit mit einem explodierenden Geschöß („Bombenform“) haben. Das Aussprießen kann an 2 oder 3 Stellen des Randes gleichzeitig auftreten, sodaß dann die Kolonien von einer Corona umgeben sind. Nach längerem Bebrüten der Platten zeigt die Mehrzahl der runden Kolonien Anzeichen von Aussprießen. Man kann mitunter mehrere Stadien des Wachstums solcher runden Kolonien sehen: Um den mittleren, älteren, gewölbten Teil der

Kolonie ist ein flacher Saum von geringerer oder größerer Ausdehnung festzustellen. Impft man von dem flachen Saum der Rundkolonien ab und legt Plattensätze an, so entwickeln sich nur Flachkolonien, dagegen entstehen aus dem zentralen Teil der Kolonien reichlich runde Kolonien mit eingestreuten flachen Kolonien und „Bombenformen“. Diese Feststellungen erklären die Beobachtung, daß ältere Kulturen, die von Rundkolonien gewonnen waren, wenn man von ihnen nach längerer Zeit Plattenansätze anlegt, nur spärliche Rundkolonien und reichliche Flachkolonien entstehen lassen. Folgende Abbildungen mögen das Gesagte illustrieren: (Fig. a, b, c, d, e).

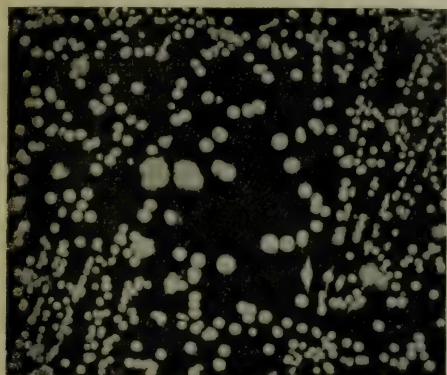


Fig. a.

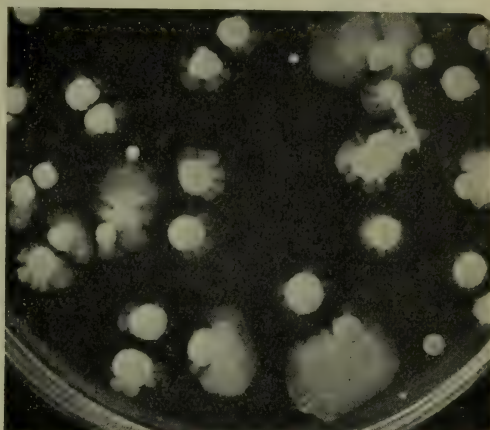


Fig. b.

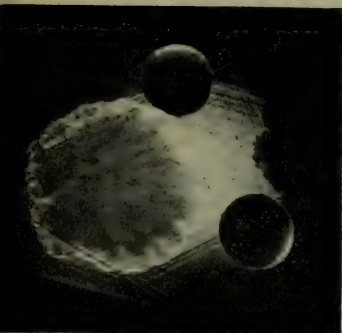


Fig. c.

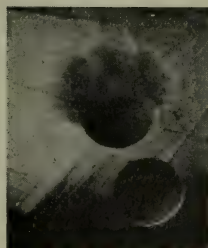


Fig. d.

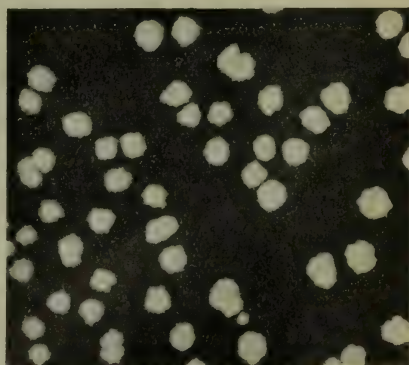


Fig. e.

Fig. a. Kolonien auf Nähragar nach 24stünd. Bebrütung, von einer Rundkolonie angelegt.

Fig. b. Kolonien auf Nähragar nach mehrtägiger Bebrütung, von einer Rundkolonie angelegt.

Fig. c. Rund- und Flachkolonie auf Nähragar. Starke Vergrößerung.

Fig. d. Rundkolonie und „Bombenform“ auf Nähragar. Starke Vergrößerung.

Fig. e. Kolonien auf Nähragar nach 24stünd. Bebrütung, von einer Flachkolonie angelegt.

Die Kenntnis dieser wechselnden Wuchsformen des Ruhrbazillus Kruse-Sonne ist natürlich von praktischer Wichtigkeit bei der Untersuchung der Stühle auf solche Mikroorganismen. Die beiden beschriebenen Kolonieförmigkeiten findet

man oft gleichzeitig auf den Endo-Platten, die mit Stuhlmaterial geimpft worden sind und zwar in stark wechselndem Zahlenverhältnis. Wie gleich hier vorweg genommen werden mag, verhalten sich die Mikroorganismen der beiden Kolonieförmigkeiten in kultureller Hinsicht vollständig identisch, unterscheiden sich aber, wie schon oben gesagt, serologisch sehr wesentlich.

Auf dem Endoagar wächst der Ruhrbazillus Kruse-Sonne in durchscheinenden blaßrosaroten Kolonien, von denen aber einige bei mehrtägiger Bebrütung einen rötlichen Kern besitzen. Auf längere Zeit bebrüteten Endoplatten treten Tochterkolonien auf, die öfters eine fuchsinrote Farbe mit Metallglanz zeigen. Impft man von einer solchen Tochterkolonie ab und macht einen Endoplattensatz, so erscheinen bereits nach 24 Stunden neben blaßrosaroten Kolonien zahlreiche mit tiefrotem Kern und außerdem tiefrote, metallglänzende Kolonien. Die Tochterkolonien bestehen also aus Keimen, die besonders befähigt sind, Milchzucker zu spalten.

Nun wollen wir das Verhalten des Ruhrbazillus Kruse-Sonne auf den Nährböden der „bunten Reihe“ beschreiben.

Auf dem gebräuchlichen Nähragar wächst der Ruhrbazillus Kruse-Sonne im üppigen Rasen, der mitunter leicht irisiert.

Auf Loefflerserum tritt niemals Erweichung oder Verflüssigung ein, da er tryptische Fermente nicht besitzt. Auch keinerlei Farbstoffbildung ist auf diesem Nährboden feststellbar.

Gelatine wird nicht verflüssigt.

In der Nährbouillon wächst dieser Keim gut. Meist findet sich, wie schon Kruse angibt, ein Bodensatz und die darüber stehende Flüssigkeit zeigt nur eine geringe Trübung. Die Colitisbazillen dagegen trüben die Nährbouillon für gewöhnlich diffus.

In hoher Schicht von Traubenzuckeragar wächst dieser Bazillus sowohl aeröb als auch anaeröb, bildet aber niemals Gas.

In der Trypsinbouillon nach Neisser-Frieber wächst er ähnlich wie in der Nährbouillon, bildet aber, wie schon Kruse festgestellt hatte, kein Indol. Da sich die Colitisbazillen in bezug auf Indolbildung schwankend verhalten, indem einzelne Stämme in der Trypsinbouillon Indol bilden, andere dagegen nicht, haben wir der Indolfrage bei der Untersuchung des Ruhrbazillus Kruse-Sonne besondere Aufmerksamkeit geschenkt.

Die negative Ehrlichsche Indolreaktion in der Trypsinbouillon kann dadurch bedingt sein, daß die gewachsenen Bakterien Tryptophan nicht spalten können. Die Reaktion wird aber auch dann negativ sein, wenn die Spaltung des Tryptophans nicht bis zum Indol stattfindet, z. B. bis zur Indolessigsäure oder wenn das Indol assimiliert wird, wie dies z. B. beim Bazillus inconstans der Fall ist (Kürschner, Braun und Löwenstein).

Wir haben nun untersucht, wie sich der Ruhrbazillus Kruse-Sonne in dieser Hinsicht verhält. Um einen konstanten Gehalt an Tryptophan zu haben, benutzten wir für diese Untersuchung nicht die Trypsinbouillon, sondern eine Nährbouillon, die indolfrei war, und in der wir chemisch reines Tryptophan lösten und zwar 0,1%₀₀. Von dieser Nährbouillon beimpften wir mehrere Röhrchen mit demselben Stamm und bebrüteten bei 37°. Wir untersuchten dann die Kulturen nach 24 Std., nach 14 Tagen und nach 21 Tagen Aufenthalt im Brutschrank und zwar auf Indol nach Ehrlich und nach Salkowski und auf Tryptophan nach Erdmann und Winternitz. Wir haben beim Kruse-Sonne-Bazillus stets eine negative Indolreaktion und eine stark positive Tryptophanreaktion erhalten. Daraus geht also hervor, daß die negative Indolreaktion beim Ruhrbazillus Kruse-Sonne wie bei den indolnegativen

Colitisbazillen darauf zurückzuführen ist, daß er Tryptophan nicht anzugreifen vermag.

Bei den Ruhrbazillen spielt bekanntlich das Verhalten gegenüber Mannit und Maltose eine besondere Rolle. Wir prüften unsere Stämme in Mannit-Barsiekow- und Maltose-Barsiekow-Lösung. Alle unsere Stämme griffen beide Stoffe an und bildeten Säure. Allerdings erfolgte die Maltosespaltung manchmal langsam, sodaß sie erst nach mehrtägiger Bebrütung feststellbar war. Es liegt aber unserer Meinung nach kein Anlaß vor, deshalb die Kruse-Sonne-Bazillen in zwei Untergruppen, in Maltose spaltende und nichtspaltende, zu trennen, wie es Mita vorgeschlagen hat.

Wichtig ist das Verhalten gegenüber Saccharose. Wir prüften dieses ebenfalls in Barsiekow-Nährböden. Bei der Mehrzahl der Stämme, wie übrigens auch bei der Mehrzahl der Colitisstämmen, beobachtet man zunächst keinerlei Rötung des Nährbodens, aber nach längerem Brutschrankaufenthalt (2—3 Wochen) tritt eine Rötung des Nährbodens ein, die von einer starken Trübung begleitet sein kann. Niemals ist aber die Säurebildung aus Saccharose bei unseren Stämmen so stark gewesen, daß es zur Niederschlagsbildung in Barsiekow-Nährlösung gekommen wäre.

Daß der Ruhrbazillus Kruse-Sonne Milchzucker zu spalten vermag, ist bereits seit den Untersuchungen von Kruse und seinen Mitarbeitern bekannt.

Wir haben uns mit der Milchzuckerspaltung eingehend beschäftigt. In hoher Schicht von Milchzuckeragar wächst der Kruse-Sonne-Bazillus aerob und anaerob, bildet aber niemals Gas.

Interessant ist sein Verhalten in Petruschkyscher Lackmusmolke, das von Sonne festgestellt worden ist, und das wir an unseren Stämmen bestätigen können. Während die Colitisbazillen in der Petruschkyschen Lackmusmolke einen zweimaligen Umschlag zeigen, nämlich von dem ursprünglichen Violett ins Rote und dann wieder ins Blaue, findet man bei den Kruse-Sonne-Bazillen einen dreimaligen Umschlag und zwar aus dem Violett nach Rot, von da nach Blau und schließlich wieder ins Rot. Zeitlich verläuft der Vorgang so, daß nach 24 Std. Brutschrankaufenthalt der Umschlag ins Rote eintritt, nach 2—7 Tagen der Umschlag ins Blaue und nach 6—23 Tagen der Umschlag ins Rote; im Durchschnitt vergehen etwa 12 Tage (bei 37°) bis zum dritten Umschlag.

Der 3. Umschlag ist als die Folge der Spaltung des Milchzuckers aufzufassen. Er tritt bei den einzelnen Stämmen der Kruse-Sonne-Bazillen nach sehr verschiedener Zeit zu Tage. Das kann man sich nur durch die Annahme erklären, daß in einer Population von Kruse-Sonne-Bazillen immer nur vereinzelte Individuen vorhanden sind, die die Fähigkeit haben, Milchzucker anzugreifen, und daß sich diese erst intensiv vermehren müssen, damit die Säurebildung manifest wird. Wenn die Nährstoffe, die den nichtmilchzuckerspaltenden Individuen der Population zur Ernährung dienen, verbraucht sind, dann befinden sich die milchzuckerspaltenden im Vorteil, können die anderen, für Milchzuckerassimilation unbegabten überwuchern. Daß diese Annahme richtig ist, das haben uns folgende Versuche gezeigt: Impft man aus der Lackmusmolke nach dem dritten Umschlag ab und untersucht die gewonnenen Kulturen, so zeigt sich, daß sie alle kulturellen und serologischen Merkmale des Kruse-Sonne-Bazillus besitzen, jedoch mit der Ausnahme, daß sie sofort die Lackmusmolke röten und daß kein weiterer Umschlag in dieser erfolgt. Die Lackmusmolke bleibt dauernd rot, ein Zeichen, daß jetzt so viele milchzuckerspaltende Bakterien vorhanden sind, daß die Alkalibildung kompensiert wird. Solche Keime wachsen auch auf Endoagar in fuchsinroten, metallglänzenden Kolonien und bringen die Milch bereits in 2—4 Tagen zur Gerinnung.

Kruse benutzte bekanntlich zu der Diagnose seiner Rasse E die Milch. Wir verwendeten die Naturabüchsenmilch der Naturamilchgesellschaft in Waren in Mecklenburg. Unsere Stämme brachten die Milch langsam zur Gerinnung (6—22 Tage bei 37°). In der Milch tritt gleichfalls eine Anreicherung der zur Milchzuckerspaltung besonders befähigten Individuen, wie Hilgers zeigte, ein. Davon haben wir uns ebenfalls durch Versuche überzeugen können, die in gleicher Weise ausgeführt wurden, wie die bei der Lackmusmolke beschrieben.

Für die Zwecke der schnelleren praktischen Diagnostik ist das langsame Eintreten der Milchgerinnung und des dritten Umschlages in der Lackmusmolke störend. Wir suchten deshalb nach einem Nährboden, in dem die Milchzuckerzersetzung rascher nachweisbar ist. Die Lackmusmilch nach Heim und die Milchzucker-Barsiekow-Nährlösung boten keinerlei Vorteile. Dagegen erwies sich eine Milchzucker-Fuchsin-Bouillon nach Stern brauchbarer. In diesem Nährboden tritt in spätestens 14 Tagen Rötung ein, während die Milchgerinnung des öfteren erst nach 3 Wochen eintritt. Der Nachteil dieses Stern-Nährbodens ist, daß er sich nicht länger als einige Wochen vorrätig halten läßt, weil er auch im sterilen Zustande nach einiger Zeit rote Farbe annimmt.

Bemerken möchten wir, daß diese spontane Rötung des sterilen Nährbodens sehr viel später auftritt, wenn er mit Bakterien beimpft ist, die Milchzucker nicht spalten können. Man findet deshalb, wenn man eine Reihe Röhren mit milchzuckerspaltenden und nichtspaltenden Bakterien beimpft und zur Kontrolle unbeimpfte Röhren mitbebrütet, daß zunächst eine intensive Rötung in den mit milchzuckerspaltenden Bakterien beimpften Röhren eintritt, später dann in den unbeimpften und erst nach langer Zeit in den Röhren, die mit nicht-milchzuckerspaltenden Bakterien beimpft waren.

Zum Nachweis der Milchzuckerspaltung ist natürlich auch die Milchzucker-Barsiekow-Lösung brauchbar. Die Rötung tritt in diesem Nährboden aber nicht so schnell und intensiv wie in der Stern-Bouillon ein. Deshalb geben wir der Milchzucker-Stern-Bouillon den Vorzug.

Auch Schrägröhren von Endoagar, die wir im Strich beimpften, eignen sich für den Nachweis der Milchzuckerspaltung. Der Impfstrich wird langsam fuchsinrot und nimmt Metallglanz an, oder es erscheinen Tochterkolonien von metallglänzender, roter Farbe im Impfstrich.

Colitisbazillen und Ruhrbazillus Kruse-Sonne können nach unseren Erfahrungen in der Barsiekow-Nährlösung außer den oben erwähnten Stoffen spalten: Arabinose und Laevulose, dagegen können sie beide Dulzit und Amygdalin nicht angreifen. Diese Stoffe eignen sich also für die Differentialdiagnose zwischen Kruse-Sonne-Bazillus und Colitisbazillen nicht. Das Dulcitol hat aber für die Diagnose der Ruhrbakterien deshalb eine Bedeutung gewonnen, weil man mit dessen Hilfe Verwechslungen mit anderen Bakterienarten vermeiden kann, wie Andrewes, V. Lester, Braun und Lisch gezeigt haben und unsere Untersuchungen bestätigten. Die mangelnde Fähigkeit der Dulzitspaltung stellt ein den Colitisbazillen und den Kruse-Sonne-Bazillen gemeinsames Charakteristikum dar, das sie von kulturell ähnlichen Keimen unterscheiden läßt.

Eine gewisse differentialdiagnostische Bedeutung für die Trennung der Colitisbazillen und Kruse-Sonne-Bazillen besitzt das Verhalten dieser Bakterien gegenüber Sorbit. Die Zersetzung dieses Stoffes kann am praktischsten in der Barsiekow-Lösung festgestellt werden. Der Ruhrbazillus Kruse-Sonne greift Sorbit niemals an, während die Colitisbazillen häufig Säure aus Sorbit bilden. Allerdings tritt die Säurebildung aus Sorbit bei den Coliststämmen zu sehr verschiedenen Zeiten auf. Bei zwei Stämmen war eine deutliche Rötung bereits nach 24 Std. eingetreten, bei anderen Stämmen schwankte

die Zeit zwischen 10 und 16 Tagen, bei 2 Colitisstämmen trat auch nach vierwöchentlicher Beobachtung eine Säurebildung nicht ein.

Eine besondere Bedeutung für die Differentialdiagnose der Colitisbazillen und der Kruse-Sonne-Bazillen besitzt das Verhalten dieser beiden Bakterienarten gegenüber Rhamnose (Isodulzit). Die Kruse-Sonne-Bazillen haben die Fähigkeit, die Rhamnose rasch zu spalten, während die Colitisbazillen dazu in der Regel außerstande sind. Als besonders brauchbarer Nährboden erwies sich eine Rhamnose-Fuchsin-Bouillon nach Stern, in der die Kruse-Sonne-Bazillen bereits nach 24std. Bebrütung eine Säurebildung durch tieffuchsinrote Farbe anzeigen. Auch in einer Rhamnose-Barsiekow-Nährlösung tritt zwar Rötung und Niederschlagsbildung mit Regelmäßigkeit ein, jedoch verstreichen oft 2—3 Tage bis zur deutlichen Rötung. Als sehr brauchbar erwies sich uns auch die von Gildemeister angegebene Barsiekow-Nährlösung, welche leicht herzustellen und lange haltbar ist, wie uns gemeinsam mit M. Seligmann ausgeführte Versuche zeigten.

Ausnahmen von dem Verhalten gegenüber Rhamnose haben wir bei den Kruse-Sonne-Bazillen niemals gesehen. Von 9 Stämmen von Colitisbazillen, die wir untersuchten, fand sich eine Ausnahme, und auch diese vermag den praktischen Wert der Rhamnosespaltung nicht zu vermindern, da bei diesem Stamm die fuchsinrote Färbung des Nährbodens erst nach 4—6 Tagen auftrat, während, wie gesagt, bei den Kruse-Sonne-Bazillen schon nach 24 Stunden intensive Rötung feststellbar ist.

Die Fähigkeit der Kruse-Sonne-Bazillen, Rhamnose zu spalten, ist einer Reihe von Autoren bekannt gewesen, so Sonne, Smith, Fraser, Kinloch und Smith und Lester.

Der Nachweis der Rhamnosespaltung ist für die Differentialdiagnose auch deshalb von Bedeutung, weil es Kruse-Sonne-Bazillen gibt, die Milchzucker nicht angreifen können. Wir hatten einen solchen Stamm gezüchtet, der alle kulturellen und serologischen Eigenschaften des Bazillus Kruse-Sonne aufwies, aber es fehlte ihm die Fähigkeit der Milchzuckerspaltung: er schlug ein drittes Mal in der Lackmusmolke nicht um, er brachte Milch nicht zur Gerinnung, bildete auf Endonährboden keine metallglänzenden Kolonien und rötete die Milchzuckerfuchsinbouillon nach Stern nicht.

Einige Worte mögen noch gesagt sein über das Verhalten der Colitisbazillen und der Kruse-Sonne-Bazillen gegenüber Glycerin. Wie Braun und Lisch gezeigt haben, ist die Fähigkeit, Glycerin unter Säurebildung zu spalten, einzelnen Colitisstämmen eigen, doch die Mehrzahl ist dazu nicht befähigt. Wir konnten diese Erfahrung bestätigen. Unter 8 von uns untersuchten Colitisstämmen trat bei 2 in der Glycerin-Barsiekow-Nährlösung Rötung ein, bei den anderen 6 blieb sie aus. Die Kruse-Sonne-Bazillen vermögen demgegenüber in den meisten Fällen Glycerin langsam anzugreifen. Im Durchschnitt vergingen etwa 6 Tage (2—17 Tage) bis in der Glycerin-Barsiekow-Nährlösung deutliche Rötung auftrat. Die Glycerinspaltung tritt also bei dem Kruse-Sonne-Bazillus wesentlich schneller auf als die Milchzuckerspaltung, bietet jedoch für die Diagnostik wegen der geringen Intensität keinen Vorteil. Wir beobachteten in unserem Material einen Stamm, der Glycerin nicht angegriffen hat.

Wir untersuchten weiterhin unsere Stämme von Kruse-Sonne-Bazillen auf ihr Verhalten bei der Katalase-Reaktion. Diese prüften wir in der von Knorr angegebenen Kapillar-Methode, die sich uns gut bewährte. Es ergab sich, daß sämtliche von uns geprüften Stämme von Colitisbazillen und von Kruse-Sonne-Bazillen eine stark positive Reaktion gaben, während 3 Shiga-Kruse-Stämme negativ reagierten.

Wir haben auch die Fähigkeit des Wachstums bei verschiedenen Temperaturen geprüft. Es zeigte sich, daß die Ruhrbazillen Kruse-Sonne bei 45° C. ebenso rasch und üppig zu wachsen vermögen wie bei 37°, während sich die Colitisbazillen bei 45° C. entweder nur langsam und kümmerlich oder überhaupt nicht vermehren können. Eine gleichsinnige Erfahrung machten wir bei einem Versuch im Eisschrank bei ca. 10° C. Die Kruse-Sonne-Bazillen wuchsen in der Kälte reichlicher als die Colitisbazillen. Der Unterschied war aber nicht so beträchtlich wie bei 45° C.

Im Hitzeabtötungsversuch ergab sich kein Unterschied zwischen den beiden Ruhrbazillen.

Von chemischen Desinfizientien haben wir im Hemmungs- und Abtötungsversuch Colitisbazillen und Kruse-Sonne-Bazillen gegenüber Trypaflavin geprüft. Im Abtötungsversuch zeigte sich kein wesentlicher Unterschied der Resistenz der beiden Ruhrbazillen, wohl aber war ein solcher deutlich im Hemmungsversuch zu erkennen. Die Colitisbazillen wurden von stärkeren Verdünnungen in ihrem Wachstum gehemmt als die Kruse-Sonne-Bazillen. Wir haben 7 Stämme von Colitisbazillen und 5 Stämme von Kruse-Sonne-Bazillen untersucht. Bei den ersteren schwankte die wachstumshemmende Konzentration des Trypaflavins zwischen 1:20000 und 1:100000, bei den Kruse-Sonne-Bazillen zwischen 1:5000 und 1:10000.

Derartige Feststellungen sind zwar für die Differentialdiagnose nicht brauchbar, aber sie vermehren die Gründe, aus denen heraus man die Kruse-Sonne-Bazillen von den Colitisbazillen trennen muß.

Zum Schluß dieses Abschnittes möchten wir eine tabellarische Uebersicht über das kulturelle Verhalten des Ruhrbazillus Kruse-Sonne und der Colitisbazillen bringen (Tabelle I). Es geht aus ihr hervor, daß sich diese Bakterien durch mehrere kulturelle Eigenschaften von einander unterscheiden lassen und deshalb als besondere Bakterienarten aufgefaßt werden müssen. Weiterhin geht aus dieser tabellarischen Uebersicht hervor, daß die Differentialdiagnose mit Hilfe des Rhamnosenährbodens in kurzer Zeit durchführbar ist.

Außer der kulturellen muß für die Diagnose die serologische Untersuchung ausgeführt werden. Wir wollen über das serologische Verhalten des Kruse-Sonne-Bazillus berichten.

Wir immunisierten Kaninchen mit Impfstoffen, die von Agarkulturen gewonnen und mit Aether abgetötet waren. Die Kulturen waren von flachen Kolonien des Kruse-Sonne-Bazillus gewonnen. Kaninchen vom Gewicht 1500—2000 g erhielten eine Reihe subkutaner und intravenöser Injektionen dieses Impfstoffes. Niemals haben wir bei diesen Immunisierungen irgendwelche Giftwirkungen gesehen. Das entspricht den Erfahrungen, die die meisten Autoren, welche sich mit der Frage der Giftbildung durch Kruse-Sonne-Bazillen beschäftigt haben, machten. Giftwirkungen lassen sich nur mit großen Dosen hervorrufen (Thjøtta und Sundt). Wie schon Kruse beobachtet hat und wir bestätigen können, erhält man durch Vorbehandlung mit Kruse-Sonne-Bazillen sehr schwer hochwertige Sera. Meist agglutinieren die Sera in der Verdünnung 1:1600 und 1:3200. Der höchste Titer, den wir einmal sahen, betrug 1:25600. Ferner benutzten wir ein Serum, das uns Herr Geheimrat Kruse zur Verfügung gestellt hatte. Wir möchten Herrn Geheimrat Kruse auch an dieser Stelle unseren verbindlichsten Dank sagen. Es erwies sich mit unseren Sera identisch. Diese Sera, die wir vor dem Erscheinen der Arbeit von Leuchs und Plochmann hergestellt hatten, fällten die Kruse-Sonne-Bazillen in sehr feinen Flocken aus. Auch bei den starken Serumkonzentrationen war die Ausflockung nur mit der Lupe sichtbar, wiewohl es zu einer Klärung der Bakterien-Suspension gekommen ist. Wir ließen die Ver-

Tabelle I.

	Kulturelles Verhalten der	
	Kruse-Sonne-Bazillen	Colitis-Bazillen
Schrägagar	üppiger, durchscheinender, oft leicht irisierender Rasen	
Löfflerserum	keine Farbstoffbildung, keine Verflüssigung	
Traubenzuckeragar in hoher Schicht	durchgewachsen, keine Gasbildung	
Mannit-Barsiekow-Lösung	rot, Niederschlag	
Maltose-Barsiekow-Lösung	rot, trüb oder Niederschlag (mitunter erst nach einigen Tagen)	
Saccharose-Barsiekow-Lösung	blau; wird meist langsam rotviolett	
Dulzit-Stern-Bouillon	bleibt gelb	
Milchzuckeragar in hoher Schicht	durchgewachsen, keine Gasbildung	
Lackmusmolke	nach 24 Stunden rot „ 2—4 Tagen blau „ 6—23 Tagen rot. Durchschnittlich 12 Tage bis zum 3. Umschlag	nach 24 Stunden rot „ 2 (selten bis 4) Tagen blau bleibt blau
Milch	Gerinnung in 6—22 Tagen	bleibt flüssig
Endo-Agar; im Strich beimpft	rosarot, wird allmählich fuchsinrot mit Metallglanz oder zeigt fuchsinrote Tochterkolonien	rosarot, allmählich carmoisinrot
Bouillon	schwache Trübung, Bodensatz; unbeweglich bei 22° und 37°	diffuse Trübung; geringer Bodensatz, unbeweglich bei 22° und 37°
Trypsinbouillon	schwache Trübung, Bodensatz. Indol +	diffuse Trübung, geringer Bodensatz. Indol + oder +
Rhamnose-Stern-Bouillon	fuchsinrot in 24 Stunden	bleibt auch nach 48stündiger Bebrütung gelb
Milchzucker-Stern-Bouill.	fuchsinrot in 6—14 Tagen	bleibt gelb
Sorbit-Barsiekow-Lösung	dauernd blau	meist langsam auftretende schwache Rötung, mitunter blau bleibend
Glyzerin-Barsiekow-Lösung	wird langsam rotviolett bis rot	meist blau, mitunter langsam rotviolett

suchsröhrchen 2 Std. im Brutschrank und dann bis zum nächsten Tage bei Zimmertemperatur stehen. Die Flockengröße konnte weder durch Verlängerung des Brutschrankaufenthaltes bei 37° auf 6 Std., noch durch Erhöhung der Temperatur auf 45°, noch durch Zusatz von Komplement (Belonowsky) verstärkt werden. Wir haben keinen kulturell typischen, in flachen Kolonien wachsenden Kruse-Sonne-Bazillus in den Händen gehabt, der nicht von unseren Sera in der beschriebenen Weise agglutiniert worden wäre. Wir haben eine serologische Verschiedenheit beim Kruse-Sonne-Bazillus nicht nachweisen können. Die Colitisbazillen sind bekanntlich serologisch verschieden. Nach unseren Erfahrungen stellt der Kruse-Sonne-Bazillus eine kulturell und serologisch ebenso einheitliche Bakterienart dar wie der Shiga-Kruse-Bazillus.

Was die Spezifität der Sera betrifft, die mit der flachen Form des Kruse-Sonne-Bazillus hergestellt waren, so haben wir wie auch Kruse, Sonne und Lester niemals ein starkes Uebergreifen auf andere Bakterienarten, besonders nicht auf die Colitisbazillen, gesehen.

Umgekehrt wurden unsere Stämme des Kruse-Sonne-Bazillus von Sera, die mit Colitisbazillen hergestellt waren, nicht nennenswert mitagglutiniert.

Folgende Beispiele mögen es zeigen:

Tabelle II.

Ein Immunsorum, hergestellt mit Colitisbazillen, und ein zweites, hergestellt mit Kruse-Sonne-Bazillen, werden auf Agglutinationswirkung gegenüber den beiden Stämmen untersucht.

Gesamtvolumen 1 ccm. Die Agglutination wird mit Aufschemmungen lebender Agarkulturen vorgenommen (1 Kultur in 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung). Das Ergebnis in der Tabelle ist nach zweistündigem Aufenthalt der Versuchsröhrchen bei 37° und 24 Stunden bei Zimmertemperatur verzeichnet.

Röhrchen	Gesamtverdünnung	A.		B.	
		Immunsorum gegen Colitisbaz. „C“ geprüft gegenüber:		Immunsorum gegen Kruse-Sonne-Baz. „4620“ geprüft gegenüber:	
		I Colitisbaz. Stamm „C“	II Kruse-Sonne-Baz. Stamm „4620“	III Colitis-Baz. Stamm „C“	IV Kruse-Sonne-Baz. Stamm „4620“
1)	1:25	+++	—	—	s +
2)	1:50	+++	—	—	s +
3)	1:100	+++	—	—	(+)
4)	1:200	s +	—	—	(+)
5)	1:400	(+)	—	—	(s +)
6)	1:800	(s +)	—	—	(s +)
7)	1:1600	—	—	—	((s +))
8)	Kochsalzkontrolle	—	—	—	—

In dieser und den folgenden Tabellen bedeutet:

+++ = mit bloßem Auge sichtbare Flockung unter vollkommener Klärung der Flüssigkeit
 ++ = „ „ „ „ „ „ fast vollkommener Klärung der Flüssigkeit
 + = „ „ „ „ „ „ teilweiser Klärung der Flüssigkeit
 s + = „ „ „ „ schwache Flockung unter teilweiser Klärung der Flüssigkeit
 (+) = „ der Lupe sichtbare Flockung
 (s +) = „ „ „ „ schwache Flockung
 ((s +)) = „ „ „ „ sehr schwache Flockung
 ? = fragliche Flockung
 — = keine „

Ørskov und Larsen, Leuchs und Plochmann haben die wichtige Feststellung gemacht, daß der Kruse-Sonne-Bazillus in zweierlei Kolonieförmigkeiten, in runden und in flachen Kolonien, wächst, und daß sich diese Kolonien serologisch verschieden verhalten. Immunsora, die mit Bakterien aus runden Kolonien hergestellt sind, agglutinieren in großen Flocken die homologen Bakterien, aber nicht die aus Flachkolonien stammenden. Umgekehrt agglutiniert ein durch Immunisierung mit Aufschwemmungen von Flachkolonien gewonnenes

Serum nur die Bakterien aus Flachkolonien, und zwar feinflockig. Da die Rundkolonien, wie wir bereits berichtet hatten, in dauerndem Uebergang zu Flachkolonien begriffen sind, muß man zur Immunisierung mit Bakterien aus Rundkolonien folgendermaßen vorgehen: Man legt einen Agarplattensatz von einer entsprechenden Kultur an und bebrütet ihn 24 Stunden bei 37°. Dann sucht man einwandfreie Rundkolonien aus und stellt sich direkt durch Abnahme der Kolonien mit der Oese Aufschwemmungen der Bakterien in physiol. Kochsalzlösung her. Mit diesen werden nach Abtötung der Bakterien Tiere immunisiert. Uns standen nur zwei Sera von Rundkolonien zur Verfügung, die nicht hochwertig waren. Sie agglutinierten bis zur Verdünnung 1:200. Von Herrn Prof. Leuchs wurde uns ein Serum zur Verfügung gestellt, das durch Immunisierung mit einem Gemisch von Bakterien aus Rundkolonien und aus Flachkolonien hergestellt war und das die Bakterien aus Rundkolonien bis zur Verdünnung 1:3200 agglutinierte.

Um uns im Folgenden kürzer ausdrücken zu können, wollen wir von Rundbakterien und Rundsera bzw. Flachbakterien und Flachsera sprechen. Unsere nicht hochwertigen Sera wirkten spezifisch nur auf die Bakterien, mit denen sie hergestellt waren, also Rundsera auf Rundbakterien, Flachsera auf Flachbakterien. Die folgenden Tabellen zeigen diese Tatsache (Tabellen III u. IV).

Tabelle III.

Gleichdichte Aufschwemmungen von Bakterien, gewonnen:

a) aus Rundkolonien,

b) aus Flachkolonien

eines Kruse-Sonne-Bazillus werden im Agglutinationsversuch untersucht gegenüber einem Immunsrum, das hergestellt wurde mit Bakterien aus Rundkolonien.

Das Ergebnis des Versuchs in der Tabelle ist nach zweistündigem Aufenthalt bei Bruttemperatur und 24stünd. Aufenthalt bei Zimmertemperatur verzeichnet.

Röhrchen	Gesamt-Verdünnung	a	b
		Aufschwemmung von Rundkolonien	Aufschwemmung von Flachkolonien
1)	1:10	+++	?
2)	1:20	+++	—
3)	1:40	+++	—
4)	1:80	+++	—
5)	1:160	++	—
6)	1:320	—	—
7)	1:640	—	—
8)	Kochsalzkontrolle	—	—

Zur Agglutination kann man sowohl lebende als auch gekochte Rund- und Flachbakterien benutzen.

Wie bereits Leuchs und Plochmann berichtet haben, und wir bestätigen können, läßt sich durch den Absorptionsversuch mit einem Immunsrum, das beiderlei Antikörper enthält, eine Trennung der beiden Antikörper gegen Rund- und Flachbakterien durchführen.

Für die Zwecke der Diagnostik des Kruse-Sonne-Bazillus ist es auf Grund dieser Feststellung von Leuchs und Plochmann nötig, entweder ein „Mischserum“, das sowohl Rund- als auch Flachbakterien agglutiniert, zu benutzen, oder, was wir vorziehen, ein Rundserum und ein Flachserum.

Wir möchten nun über das Verhalten des Kruse-Sonne-Bazillus bei der Säure-Agglutination nach Michaelis berichten. Bekanntlich werden die

Tabelle IV.

Gleichdichte Aufschwemmungen von Bakterien, gewonnen:

a) von Flachkolonien,

b) von Rundkolonien

eines Kruse-Sonne-Bazillus werden im Agglutinationsversuch untersucht gegenüber einem Immunsorum, das hergestellt war mit Bakterien aus Flachkolonien.

Das Ergebnis des Versuchs in der Tabelle ist nach zweistündigem Aufenthalt bei Bruttemperatur und 24stünd. Aufenthalt bei Zimmertemperatur verzeichnet.

Röhrchen	Gesamtverdünnung	a	b
		Aufschwemmung von Flachkolonien	Aufschwemmung von Rundkolonien
1)	1: 50	(+)	—
2)	1: 100	(+)	—
3)	1: 200	(+)	—
4)	1: 400	(+)	—
5)	1: 800	(+)	—
6)	1: 1600	(+)	—
7)	1: 3200	(s +)	—
8)	Kochsalzkontrolle	—	—

Shiga-Kruse-Bazillen und Colitisbazillen, wie schon Beniasch im Laboratorium von Michaelis festgestellt hat, in der Versuchsanordnung nach Michaelis durch Säure nicht ausgeflockt.

Andrewes hat auf die praktische Bedeutung der negativen Säure-Agglutination für die Trennung von Ruhrbakterien und diesen kulturell ähnlichen Mikroorganismen hingewiesen. Bei seinem milchzuckerspaltenden Bazillus dispar fand er eine positive Säure-Agglutination. Wir haben bereits in der Einleitung zu dieser Arbeit darauf hingewiesen, daß in dieser Andrewesschen Gruppe, die der Autor selbst als uneinheitlich erklärt, vermutlich auch Kruse-Sonne-Bazillen neben indolpositiven, schnell milchgerinnenden Bakterien, die eher zur Coligruppe zu rechnen wären, einbegriffen sein dürften.

Wir haben unsere Stämme von Kruse-Sonne-Bazillen, Colitisbazillen, Shiga-Kruse-Dysenterie-Bakterien und ruhrähnliche Stämme auf ihr Verhalten bei der Säure-Agglutination untersucht.

Wir hielten uns in bezug auf die Technik genau an die Angaben von Beniasch. Zur Kontrolle haben wir bei jedem Versuch auch einen Typhusstamm mituntersucht, der sich bei der Säureagglutination so verhielt, wie es Beniasch beschreibt. Folgende Tabelle (S. 29) bringt eine Uebersicht über unsere Versuche.

Das Ergebnis der Säure-Agglutinationsversuche ist bemerkenswert. Die Kruse-Sonne-Bazillen bieten ein regelmäßiges und charakteristisches Flockungsbild. Sämtliche Stämme wurden in den 4—5 stärksten Konzentrationen in groben Flocken ausgefällt. Das Bild unterscheidet sich also von dem Flockungsmodus der Typhusbazillen. Shiga-Kruse- und Colitisbazillen werden nicht ausgeflockt. Nur ausnahmsweise können vereinzelte Colisstämme minimale Flockung zeigen.

Die Kruse-Sonne-Bazillen unterscheiden sich also auch im Säure-Agglutinations-Versuch von den Colitisbazillen und den Shiga-Kruse-Bazillen.

Es lag nahe, zu versuchen, ob sich nicht bei den beiden Wuchsformen der Kruse-Sonne-Bazillen, die sich in der spezifischen Serum-Agglutination durch die verschiedene Art der Flockung auszeichnen, ein Unterschied in der

Tabelle V.

Säure-Agglutination nach Michaelis-Beniasch.

Die Versuchsanordnung ist aus der Tabelle zu ersehen. Zu den Gemischen von Milchsäure und milchsaurem Natrium wurde 1 ccm einer dichten Bakterienaufschwemmung zugesetzt. Diese wurde durch Abschwemmen 24stünd. Schrägagarkulturen mit je 2 ccm destill. Wassers gewonnen. Das Ergebnis in der Tabelle wurde nach ½stünd. Brutschrankaufenthalt und 1½stünd. Aufenthalt bei Zimmertemperatur abgelesen:

Röhrchen	Aqua redestill.	n/10 milch-saures Natron	n-Milchsäure	a Typhus-baz. K 11	b Colitis-baz. C	c Kruse-Sonne-Baz. 4573
1)	1,35	je 0,5	n/40 0,25	—	—	—
2)	1,1		n/40 0,5	—	—	—
3)	1,35		n/10 0,25	+++	—	—
4)	1,1		n/10 0,5	+++	—	—
5)	0,6		n/10 1,0	+	—	+++
6)	1,4		n/1 0,2	?	—	+++
7)	1,2		n/1 0,4	—	—	+++
8)	0,8		n/1 0,8	—	—	+++
9)	—		n/1 1,6	—	—	+++
10)	2,1	—	—	—	—	—

Säure-Agglutination zeigt. Ein entsprechender Versuch ergab keine prinzipielle Differenz.

Die Säure-Agglutination kann als ein brauchbares Differenzierungsmittel zwischen Colitisbazillen und Kruse-Sonne-Bazillen angesehen werden. Da wir aber in der Rhamnose-Zersetzung und in der spezifischen Serumagglutination ausgezeichnete Unterscheidungsmerkmale zwischen den genannten Bakterienarten besitzen, hat die Säureagglutination nur eine geringe praktische Bedeutung. Immerhin wird man sie gelegentlich zur Sicherung der Diagnose heranziehen können. Wie wir oben berichtet haben, hatten wir einen Stamm in den Händen, der alle typischen kulturellen und serologischen Merkmale des Kruse-Sonne-Bazillus besaß, aber Milchzucker nicht angreifen konnte und deshalb weder Milch koagulierte, noch die Milchzucker-Stern-Bouillon veränderte. Er hat sich auch bei der Säureagglutination genau so wie ein Kruse-Sonne-Bazillus verhalten.

Mit einigen Worten möchten wir über das Vorkommen des Kruse-Sonne-Bazillus in Frankfurt berichten. Wir haben eine kleine Epidemie, hervorgerufen durch diesen Bazillus, im Kinder-Erholungsheim auf der Wegscheide im Jahre 1926 beobachtet und eine 2. etwas ausgedehntere Epidemie im Jahre 1927 im hiesigen städtischen Krankenhaus (23 Fälle mit Bazillenbefund). Wie mehrfach schon beobachtet wurde, und wir bestätigen können, scheinen die von den Kruse-Sonne-Bazillen hervorgerufenen Erkrankungen meist einen leichten Charakter zu haben. Es ist uns nur ein Todesfall bekannt geworden. Die meisten der Erkrankten waren Kinder. Der durchschnittlich leichte Verlauf der Erkrankung wird auch von Thjøtta, Mita und Fraser, Kinloch und Smith hervorgehoben. Mit Recht heben diese Autoren hervor, daß es schwer ist, sich ein Bild von der tatsächlichen Verbreitung der Infektion mit Kruse-Sonne-Bazillen zu verschaffen, weil ein großer Teil der Fälle wegen des leichten Verlaufes der Krankheit gar nicht den Arzt aufsucht. Dabei darf aber nicht übersehen werden, daß vereinzelte Fälle schweren Verlauf haben können.

Fassen wir die Ergebnisse unserer Untersuchungen zusammen, so ergibt sich folgendes: Die sogenannte Rasse E der Pseudodysenteriebazillen (Kruse) stellt eine besondere Bakterienart dar, die sich von den anderen Ruhrbakterien durch kulturelle und serologische Unterschiede auszeichnet. Wir schlagen deshalb vor, diese Bakterienart Ruhrbazillus Kruse-Sonne zu nennen.

Literaturverzeichnis.

- 1) Andrewes, F. W., Lancet, 1918. I. 560. — 2) Ders. u. Inman, A. C., Med. Res. Committ. Spec. Report Ser. 42. 1919. — 3) Baerthlein, Berl. klin. Wochenschr. 1912. S. 735. — 4) Bamforth, J., Journ. Hyg. T. 22. 1927. p. 343. — 5) Beniasch, M., Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 22. 1912. S. 268. — 6) Belonowski, Ebenda. Bd. 53. 1927. S. 118. — 7) Braun, H., Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 91. 1919. S. 304. — 8) Ders. u. Liess, W., Zeitschr. f. Hyg. Bd. 88. 1919. S. 251. — 9) Ders. u. Lisch, H., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 107. 1928. S. 35. — 10) Ders. u. Löwenstein, P., Ebenda. Bd. 91. 1923. S. 1. — 11) Duval, C. W., Journ. Americ. med. ass. Vol. 2. 1904. p. 381. — 12) Elkeles, G., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 103. 1927. S. 57. — 13) Ders., u. Schneider, A., Ebenda. Bd. 103. 1927. S. 48. — 14) Dies., Dtsch. med. Wochenschr. 1926. S. 1424. — 15) Erdmann u. Winternitz, H., Münch. med. Wochenschr. 1903. S. 982. — 16) Fraser, A. M., Kinloch, J. Parlane, und Smith, J., Journ. hyg. T. 25. 1926. p. 453. — 17) Frieber, W., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 86. 1921. S. 424. — 18) Fyfe, G. M., Journ. hyg. T. 26. 1927. p. 271. — 19) Gilde-meister, E., Centralbl. f. Bakt., Bd. 87. — 20) Heim, L., Lehrb. d. Bakteriologie, 1922 bei Enke in Leipzig. 6. u. 7. Aufl. — 21) Ders., Zeitschr. f. Hyg. Bd. 101, 1924. S. 104. — 22) Hilgers, W. E., Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 30. 1920. S. 77. — 23) Hutt, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 74. 1913. S. 108. — 24) Kinloch, J. Parlane, Journ. hyg. T. 21. 1923. p. 451. — 25) Knorr, M., Münch. med. Wochenschr. 1923. S. 1381. — 26) Ders., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 103. 1927. S. 147. — 27) Knox, J. H. M., u. Schorer, E. H., John Hopkins hospital reports. Vol. 10. 1910. p. 1. — 28) Kruse, Rittershaus, Kemp u. Metz, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 57. 1907. S. 417. — 28a) Kruse, Dtsch. med. Wochenschr. 1915. Nr. 36. — 29) Kürschner, Inaug.-Diss. Berl. tierärztl. Hochschule 1921. — 30) Lester, V., Ujeskrift f. Laeger. Vol. 88. 1926. p. 1125, ref. Zentralbl. f. Hyg. Bd. 15. 1927. S. 129. — 31) Lester, V., Acta Pathologica et Microbiologica Scandinavica, Vol. III, 1926, S. 696. — 32) Leuchs, J., u. Plochmann, E., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 104. 1927. S. 347. — 33) Liess, W., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 83. 1919. Heft 3. — 34) Mita, K., Journ. infect. dis. T. 29. 1921. p. 580. — 35) Murakami, K., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 101. 1927. S. 377. — 36) Neustadt, R., Münchener med. Wochenschrift, 1917, S. 1507. — 37) Neisser, M., u. Frieber, W., Indol- u. Phenolbildung durch Bakterien. In Kraus-Uhlenhuths Handb. d. mikrobiol. Technik. Bd. 2. 1923. S. 1245, b. Urban u. Schwarzenberg, Berlin u. Wien. — 38) Øhnell, Kliniska och bakteriologiska bidrag til kännedom om Dysenteri i Sverige Stockholm 1918 (zit. nach Lester). — 39) Ørskov, J., und Larsen, Arnd, On Bacterial Variation. Journal of Bacteriology, Bd. X, 1925. — 40) Patterson, S. W. u. Williams, F. E., Journ. path. a. bact. Vol. 25. 1927. p. 393. — 41) Pery, H. M. und Bensted, H. J., Transact. of the R. soc. of tropic. med. and hygiene, 21, 420, 1928. zit. Zbl. f. Hyg. XVIII, 585, 1928. — 42) Smith, J., Journ. hyg. Vol. 23. 1925. p. 94. — 43) Sonne, C., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 75. 1915. S. 408. — 44) Stern, W., Ebenda. Bd. 78. 1916. S. 481. — 45) Thjøtta, Th., Journ. bact. Vol. 4. 1919. S. 355. — 46) Ders. u. Sundt, O. Falsen, Ebenda. Vol. 6. 1921. p. 501. — 47) Wiseman, W. R., Journ. hyg. Vol. 26. 1927. p. 187.

Nachdruck verboten.

Ueber das Verhalten des Variola-Vakzinevirus in der Gewebekultur¹⁾.

[Aus dem Zellforschungslaboratorium und dem Bakteriologischen Laboratorium der Bakteriologischen Abteilung des Reichsgesundheitsamtes, Berlin-Dahlem].

Von **E. Haagen.**

Die Einführung der festen Nährböden durch Robert Koch führte zur Entdeckung zahlreicher bakterieller Krankheitserreger, die in Reinkultur gewonnen und in beliebigen Passagen unbegrenzt fortgezüchtet werden konnten, ohne daß ihre spezifischen Arteigentümlichkeiten auch bei andauerndem Leben außerhalb des Organismus wesentlich verändert wurden. Bei den invisiblen Vira erwiesen sich aber, wenn von dem Virus der Lungenseuche des Rindes abgesehen wird, die bei den Bakterien so erfolgreich angewandten Nährböden bisher als unbrauchbar. Es wurde daher schon als ein Fortschritt angesehen, wenn es gelang, ein filtrierbares Virus wenigstens in Versuchstieren in Reinkultur fortzuzüchten.

Sehr bald nach der Einführung der Gewebezüchtung durch Roux und Harrison wurde versucht, diese Methode zur Züchtung der verschiedensten, auch der unsichtbaren Vira, heranzuziehen; es sei hier vor allem auf die schon im Jahre 1913 ausgeführten Experimente von Steinhardt, Israeli und Lambert hingewiesen, welche also bereits ganz kurze Zeit nach den ersten gewebezüchterischen Arbeiten überhaupt das Vakzinevirus zusammen mit gesunden Hornhautexplantaten vom Kaninchen oder Meerschweinchen zu züchten versuchten, nachdem sie vorher diese Gewebestückchen einige Minuten in eine Virusemulsion getaucht hatten. Das Virus war in glyzerinierter und karbolisierter Kälberpockenlymphe enthalten, welche vorher durch Kollodiumsäckchen dialysiert worden war. Die Hornhautstückchen wurden in der üblichen Tropfenkultur in Kaninchen- bzw. Meerschweinchenplasma bei 37° C gezüchtet. Subkulturen gaben noch nach dem 3. Umbetten in einer Gesamtzüchtungszeit von 34 Tagen an Hornhaut und Haut positive Impfergebnisse. In den histologischen Präparaten dieser Hornhäute konnten Guarnierische Körperchen nicht gefunden werden. Die Forscher glaubten damals, durch diese Art der Züchtung eine Vermehrung des Virus erreicht zu haben. Ohne ihr Verdienst, zuerst die Züchtung des Vakzinevirus mittels der Explantationsmethode versucht zu haben, irgendwie schmälern zu wollen, kann man sich doch heute dieser Ansicht kaum noch anschließen. Vielmehr darf man wohl annehmen, daß bei den wenigen Subkulturen wohl eine Uebertragung und Konservierung des Virus stattgefunden hatte, während der Beweis für eine Vermehrung damit aber noch nicht sicher erbracht war. Im Jahre 1916 stellte Gins entsprechende Versuche an. Er kam ebenfalls zu dem Ergebnis, daß infizierte Hornhautkulturen vom Kaninchen das Virus gut zu konservieren vermochten. Während Gins früher geneigt war, die in den auswachsenden Zellen der Hornhaut auftretenden Einschlüsse als Vakzinekörperchen anzusprechen, ist er neuerdings im Verlaufe weiterer gewebezüchterischer Studien zu der Auffassung gelangt, daß die als Guarnierische Körperchen gedeuteten Zelleinschlüsse der im

1) Nach einem in der Berliner Mikrobiologischen Gesellschaft am 13. 2. 1928 gehaltenen Vortrag.

Verlaufe der Explantation ausgewanderten Epithelzellen nichts anderes als Degenerationsprodukte absterbender Zellen sind. Wo doch noch typische Guarnierische Körperchen im Explantat zur Beobachtung kamen, handelte es sich nicht um neuentstandene, sondern um bereits vor der Explantation im Hornhautgewebe vorhanden gewesene Zelleinschlüsse.

Aus diesen Versuchen konnte also eine Lösung des Problems einer Züchtung von Vakzinevirus außerhalb des Organismus und besonders mit Hilfe der Explantationsmethode nicht hergeleitet werden, und es vergingen beinahe 10 Jahre, bis wieder an derartige Experimente herangetreten wurde. Von Hach wurde Milz- und Hodengewebe intratestal mit Vakzinevirus infiziert gewesener Kaninchen gezüchtet. Die Kulturen wurden 5—12 Tage im Brutschrank gehalten und zwar unter Zusatz von Gewebestückchen neugeborener Kaninchen, da er sich — wie auch vorher bereits Lambert, Steinhardt und Israeli — durch das junge Gewebe einen günstigen Einfluß auf das Viruswachstum versprach. Alle seine Kulturen führten nach der Bebrütung sowohl an der Haut wie auch an der Cornea zu typischen Pockendefekten, in denen der Nachweis Guarnierischer Körperchen gelang. Milz- und Hodengewebeulturen ergaben gleichgute Resultate. Wenngleich bei diesen Versuchen wohl eine Konservierung des Vakzinevirus in den Hoden- und Milzgewebeeplantaten stattfand, so war die Frage, ob es tatsächlich zu einer Vermehrung des Vakzinevirus gekommen war, auch durch diese Versuche noch nicht sicher beantwortet.

Erst die Untersuchungen von Parker und Nye sind — was eine Züchtung, d. h. eine kulturelle Vermehrung des Vakzinevirus in Gewebeeplantaten betrifft — erfolgreicher gewesen. Zuerst züchtete Parker das Hodengewebe eines Kaninchens mit einer Orchitis vaccinica, und zwar in normalem Plasma, so, daß er die Gewebekulturen alle 5—7 Tage umbettete, und, wenn die Explantate nicht mehr gut gewachsen waren, frisches und gesundes Hodengewebe hinsetzte. Auf solche Weise konnte Parker das Vakzinevirus wirksam bleibend in 54 Tagen durch 9 Passagen führen und an Hornhaut, Haut und Hoden mit diesen Gewebekulturen positive Impfresultate erhalten; dabei soll auch der Nachweis Guarnierischer Einschußkörperchen möglich gewesen sein. In den mit Nye gemeinsam fortgesetzten Versuchen wurde die Methodik insofern modifiziert, als zur Züchtung nunmehr normales Hodengewebe, welches erst durch 5 Minuten langes Eintauchen in eine vakzinevirushaltige Hodenemulsion infiziert worden war, benutzt wurde. Diese so infizierten Explantate wurden alle 5—7 Tage unter Zusatz von frischem Hodengewebe umgesetzt. Mittels einer besonderen Titrationsmethode errechneten sie, daß in den Kulturen der 11. Passage 51000 mal mehr Virus vorhanden war als in den Ausgangskulturen. Nach 3monatiger Züchtung wurden in der 18. Passage noch positive Impfresultate an Cornea, Haut und Testes erhalten, nach 4 Monaten bei der 20. Passage nur noch an den Testes; Haut und Hornhaut dagegen blieben frei. Nach einigen weiteren Passagen ließ sich dann auch durch die Hodenimpfung kein Vakzinevirus mehr nachweisen.

Von Wichtigkeit ist, darauf hinzuweisen, daß diese Autoren ein Viruswachstum nur in unmittelbarer Nachbarschaft von Zellen für möglich halten, allerdings ohne entscheiden zu können, ob die Virusvermehrung intra- oder extrazellulär erfolgen wird.

Craciun und Oppenheimer isolierten die Vakzinegranula, welche sie mit den Paschenschen Körperchen identifizieren zu können glaubten, durch Zentrifugieren von den übrigen Bestandteilen und etwaigen Verunreinigungen der Kälberpockenlymphe und versetzten embryonale Meerschweinchen-Cornea-Explantate mit einem Tropfen solchen angeblich nur Vakzinegranula enthaltenden Substrates. Bei Umbettung alle 3—4 Tage unter Zusatz von frischem

Hornhautgewebe konnten sie das Virus bis zu 71 Tagen lebend erhalten. Es zeigte sich aber, daß das Vakzinevirus nur am Leben blieb, wenn die Gewebe-explantatzellen auch lebten, und daß es mit diesen abstarb. Nur lebende Explantate ergaben positive Hornhautverimpfungen. Die Virulenz dieser Kulturen nahm auch nach zahlreichen Passagen nicht ab, vorausgesetzt, daß das Zellwachstum gut blieb. Hierin verhalten sich also die Granula wie das Pockenvirus selbst, das — worauf ja Parker und Nye schon vorher hingewiesen hatten — nur in engster Beziehung zu lebenden Zellen lebens- und vermehrungsfähig bleibt. Ein sicherer Nachweis von Paschenschen Körperchen in den Explantaten gelang nicht.

Einen neuen Weg, Vakzinevirus zur Vermehrung zu bringen, haben Carrel und Rivers eingeschlagen. Sie brachten das Pockenvirus zusammen mit Hühnerembryonalgewebe in sogenannte Carrel'sche Flaschen und konnten dann nach 8tägiger Bebrütung eine Vermehrung des Virus bis zum 400fachen beobachten.

H. Löwenthal versuchte Vogelpocken mittels des Kapillarsteigverfahrens von allen Begleitstoffen zu trennen und dann in Milz- und Knochenmark-explantaten von Tauben zur Vermehrung zu bringen. Er bestimmte die Infektiosität der Explantate vor und nach einwöchiger Bebrütung und nahm eine Vermehrung des Vogelpockenvirus nach dieser Zeit an, weil er eine um die Hälfte verkürzte Inkubationszeit, eine Zunahme und ein Konfluieren der bei der Hautimpfung entstehenden Pockenpusteln beobachtet hatte, und schließlich weil nach der Züchtung der Explantate das Material noch bis zur Verdünnung von 1:300 infektiös war, während dies vor der Züchtung nur bis zu einer Verdünnung von 1:10 der Fall war. Nähere Angaben, in welcher Weise und wie oft,artige Auswertungen gemacht worden sind, fehlen, wodurch naturgemäß eine Bewertung derselben erschwert ist.

Auch wenn man annimmt, daß Löwenthals Angaben das Durchschnittsergebnis zahlreicher Auswertungen darstellen, so würden sie indes nur soviel besagen, daß in der Primärkultur eine Vermehrung eingetreten ist, aber nichts darüber, ob das Virus in weiteren Passagen vermehrungsfähig geblieben wäre. Die Züchtung eines Virus kann aber letzten Endes erst dann als völlig gelungen angesehen werden, wenn der Keim nicht nur primär zur Anzucht, sondern auch in beliebigen Passagen zur dauernden Vermehrung gebracht werden kann, und hierauf kommt es uns in der vorliegenden Arbeit in erster Linie an.

Aus den Literaturangaben dürfte hervorgehen, daß dem Ziele, mit Hilfe der Explantationsmethode das Vakzinevirus außerhalb des Organismus zur Vermehrung zu bringen und in Passagen fortzuzüchten, bisher Parker und Nye wohl am nächsten gekommen sind.

An die Methode dieser beiden Forscher lehnen sich die im folgenden beschriebenen Versuche im wesentlichen an. Von der Annahme ausgehend, daß homologes Züchtungsmaterial die günstigsten Bedingungen für eine Kultivierung des Vakzinevirus schaffen würde, gelangte nur Kaninchenmaterial zur Verwendung, und zwar Kaninchenhodengewebe in Kaninchenplasma unter Zusatz von Kaninchenmilzextrakt als wachstumsfördernde Substanz. Für die Anlage der Gewebekulturen seien folgende technischen Einzelheiten mitgeteilt.

Plasmagewinnung.

Die Carotis eines Kaninchens wird unter aseptischen Cautelen freigelegt, unterbunden und durchgeschnitten. Das Blut wird direkt aus der Arterie in Zentrifugenröhrchen geleitet, welche vorher mit 1 ccm Heparin in der Verdünnung 1:1000 beschickt worden waren. Dann wird etwa 15 Minuten zentri-

fugiert und das überstehende Plasma in alkalifreie Glasröhrchen pipettiert. Das so gewonnene Plasma ist infolge seines Heparinzusatzes wochenlang bei niederen Temperaturen flüssig und gebrauchsfähig zu halten.

Bereitung des Milzextraktes.

Die Milz eines Kaninchens wird unter Zusatz von einigen cem Ringer- oder Normosallösung steril im Mörser zerrieben und etwas 15 Minuten bei 3500 Umdrehungen zentrifugiert. Die dann überstehende ziemlich klare und nur wenig hämorrhagische Flüssigkeit wird abpipettiert; sie dient als wachstumsfördernde Substanz und behält bei niederer Temperatur ihre Wirksamkeit etwa 8 Tage lang.

Aus diesen beiden Grundbestandteilen wird das Kulturmedium zusammengesetzt. Es besteht aus 4 Teilen Plasma und einem Teil Milzextrakt, wird in kleinen Tropfen auf sterile säure- und alkalifreie Glimmerplättchen gebracht, verstrichen und mit kleinen Gewebestückchen von etwa Stecknadelknopfgröße — in diesem Falle mit Hodengewebestückchen — beschickt. Die Flüssigkeit gerinnt nach Zusatz des Gewebestückchens recht bald. Die mit den Gewebekulturen versehenen Glimmerplättchen werden auf hohlgeschliffene Objektträger gebracht; durch Abdichten der Ränder mit Paraffin oder Vaseline wird das Vertrocknen der Gewebekulturen verhindert. Die Bebrütung erfolgt im Thermostaten bei 37,5° C.

Zunächst wurden Kulturen normaler Hoden von jungen Kaninchen angelegt. Nach 3tägiger Züchtung wurden diese aus den Zellrändern herausgeschnitten und 2—3 Minuten in eine Vakzinevirus-haltige Flüssigkeit getaucht, die auf folgende Weise gewonnen wurde:

Ein Kaninchen wurde mit einer neurolapinen Vakzine intratestal infiziert. Innerhalb von 4—5 Tagen entwickelte sich dann eine ausgesprochene Orchitis vaccinica. Um nicht zu hämorrhagische Hodengewebe zu bekommen, empfiehlt es sich, das Kaninchen schon zu töten, wenn das Maximum der Entzündung noch nicht erreicht ist. Die Hodenentnahme erfolgt steril am zweckmäßigsten von der Bauchhöhle aus durch Hervorziehen durch den Canalis inguinalis. Das Hodengewebe wurde unter Zusatz von Ringer- oder Normosallösung im Volumenverhältnis von 1 : 5 im sterilen Mörser fein verrieben und die dann gewonnene Emulsion bei 3500 Umdrehungen etwa 20 Minuten zentrifugiert. Die überstehende einigermaßen zellfreie Flüssigkeit wurde abpipettiert und diente als Infektionsmaterial, in welches die Gewebestückchen gebracht wurden. Die auf diese Weise mit dem Vakzinevirus infizierten Explantate wurden nunmehr wieder in frische Plasma-Extraktropfen eingebettet und ebenfalls 2 Tage bebrütet. Die danach ausgewachsenen Zellränder wurden dann abgeschnitten und auf ihren Vakzinevirusgehalt untersucht. Sie erwiesen sich im Cornealversuch durchgängig als reichlich infektiös, d. h. sie verursachten zum großen Teil bereits innerhalb von 24 Stunden auf der Hornhaut zahlreiche typische Vakzineherde. Die Ausgangsstückchen wurden nun abermals in frisches Nährmedium gebracht und so fortlaufend umgebettet. Auf diese Weise konnte in den gewachsenen Rändern immer wieder Vakzinevirus nachgewiesen werden.

Da diese Methode aber nicht geeignet erschien, um in absehbarer Zeit eine auch rechnerisch belegbare Vermehrung nachzuweisen, andererseits aber das Hodengewebe sich nicht dauernd umbetten ließ, weil es wohl nicht die Wachstumspotenzen anderer Gewebearten wie Fibroblasten oder Tumorgewebe hat,

erwies es sich als angebracht, bei der Anlage der Subkulturen wieder neues Hodengewebe hinzuzusetzen, um so der Gefahr eines Absterbens der Gewebe- und damit der Vakzineviruskultur vorzubeugen. Dabei wurde nun wieder so verfahren, daß normales Hodengewebe einige Tage gezüchtet, aus den gewachsenen Zellrändern herausgeschnitten und dann in einer vakzinevirus-haltigen Flüssigkeit infiziert wurde. Nach 4—5 Tagen wurde das Hodenstück wieder aus seinen gewachsenen Rändern herausgeschnitten und in zwei bzw. drei oder auch vier Fragmente geteilt. Im allgemeinen erwies sich technisch eine Zweiteilung als am zweckmäßigsten. Diese virushaltigen Fragmente wurden erneut zu normalen Hodenstückchen hinzugesetzt. Nach weiteren 5—6 Tagen abermals Herausschneiden dieser Stückchen aus den Zellrändern, wieder Teilung in zwei oder drei Fragmente, und mit diesen abermals Infektion frischer Hodenstückchen. Bei der in der Potenz anwachsenden Zahl der Subkulturen war es bald nötig, sich für die Weiterzüchtung der Kulturen auf nur einige Stämme zu beschränken, die sich im Cornealversuch als gut vakzinevirus-haltig erwiesen hatten, und schließlich überhaupt nur noch einen Stamm weiterzuzüchten. Auf diese Weise konnte das Vakzinevirus ununterbrochen etwa 8 Monate lang mit Hilfe von Gewebekulturen in Passagen fortgezüchtet werden. Die Kontrolle auf den Vakzinevirusgehalt wurde derart ausgeführt, daß von der in Fragmente geteilten Kultur das eine Fragment zur Cornealimpfung diente, und das andere oder die anderen Fragmente — wie beschrieben — an frische Hodenstückchen gebracht wurden. Lieferte ein solches Gewebekulturteilchen keine für Vakzine spezifischen Veränderungen an der Cornea, so wurden die mit den entsprechenden Fragmenten beschickten und neu angelegten Hodengewebekulturen nicht mehr weiter gezüchtet. Bei unseren drei Vakzinevirusstämmen waren durchschnittlich 80 Proz. zum Teil recht stark infektiös, d. h. die mit diesen Kulturen geimpften Kaninchenhornhäute zeigten im Paulschen Versuch zum großen Teil schon nach 24 Stunden zahlreiche dicht nebeneinander liegende Herde. Dies war, wie in der Tabelle No. I ersichtlich ist, selbst in den letzten Passagen unverändert gut der Fall. Hieraus kann man entnehmen, daß das Vakzinevirus im Verlaufe der Züchtung mit Gewebekulturen seine Virulenz voll und ganz bewahrt hat.

Vakzinevirusexplantate, welche schlechtes Zellwachstum zeigten, enthielten entweder gar kein oder nur sehr wenig Vakzinevirus. Diese sich immer wiederholende Erscheinung spricht sehr dafür, daß das Virus anscheinend nur in Gegenwart lebensstüchtiger Zellen zu gedeihen vermag. Eine solche Voraussetzung ist in den Hodengewebekulturen, welche sehr gut wachsen, gewährleistet. Auch Lungengewebekulturen vermögen das Vakzinevirus lebensfähig und wirksam zu erhalten, soweit aus unseren mit dieser Gewebeart gemachten Erfahrungen hervorgeht. Ueber das Verhalten des Vakzinevirus in Hornhautkulturen haben wir keine eigenen Erfahrungen. Aus den von anderen Autoren erzielten Resultaten geht jedoch hervor, daß das Vakzinevirus sich in ihnen nicht so gut züchten und wahrscheinlich auch nicht dauernd lebensfähig erhalten läßt, wie dies dagegen nach den Ergebnissen mit Hodenexplantaten der Fall ist. Wenn wir auch die von Gins vertretene Anschauung, daß das Hornhautwachstum im Explantat nur ein protahierter Absterbevorgang ist, nicht ganz zu teilen vermögen, so besteht doch kein Zweifel, daß das Corneae-pithel viel langsamer als die anderen zur Züchtung benutzten Gewebe wächst, und schon deshalb mag es für die Kultivierung des Vakzinevirus ein nicht ohne weiteres geeigneter Boden sein.

Wie aus der Tabelle I hervorgeht, kam es schon nach verhältnismäßig wenigen Passagen zu einer so beträchtlichen Aufteilung der anfangs in den Primärkulturen enthalten gewesenen Virusmengen, daß das noch in den letzten

Tabelle I.
Kultur Nr. 20.

Datum	Material	Nr. der Passage	Teilzahl	Verdünnungsfaktor	Zahl der Augenversuche	davon				% positiv
						+	++	+++	—	
24. 10.	Normalhodenkultur angelegt									
28. 10.	umgebettet und infiziert									
4. 11.	geteilt und mit frisch. Hodengewebe versehen	1	2	2	1			+++		
9. 11.	dgl.	2	2	4	1 (Rand)			+++		
12. 11.	„	3	4	16	1		++			
15. 11.	„	4	2	32	1		++			
26. 11.	„	6	2	256	1		++			
17. 12.	„	11	4	131 072	7	2	1	2	2	ca. 70 %
4. 1.	„	14	2	ca. 3,1 Mill.	8	3	0	2	3	„ 60 „
21. 1.	„	18	2	„ 50 „	5	1	0	3	1	„ 80 „
10. 2.	„	22	2	„ 800 „	6	0	0	5	1	„ 80 „
9. 5.	„	37	2	„ 88 Bill.	10	1	1	2	2 (tot)	„ 80 „

Passagen vorhandene und in erheblicher Menge nachweisbare Vakzinevirus nur durch Vermehrung entstanden sein kann. Ein nur von Explantat zu Explantat verschlepptes und in diesem konserviertes Vakzinevirus würde bei der erzielten wirklichen Verdünnung tierexperimentell nicht mehr nachweisbar sein.

In dem weiteren Verlauf der Züchtung haben wir uns bemüht, daß Vakzinevirus in den Gewebekulturen nicht nur qualitativ zu prüfen, sondern auch exakt quantitativ auszuwerten. Für den ersten Zweck bedienten wir uns wieder der Cornealverimpfung am Kaninchenauge und für die quantitative Auswertung der intratestalen Methode nach Ohtawara, die nach den eingehenden Untersuchungen von Gildemeister und Heuer selbst außerordentlich geringe und in ihrer Virulenz etwa abgeschwächte Virusmengen nachzuweisen gestattet und der Prüfung an der Haut oder Hornhaut des Kaninchens weit überlegen ist.

Prüfung der 24. Vakzinevirus-Gewebekulturpassage auf ihren Gehalt an Vakzinevirus.

20 Explantate wurden aus ihren Plasmatrophen herausgenommen, im Achatmörser sorgfältig verrieben und mit 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Um für das in dieser Passage vorhandene Vakzinevirus ein Vergleichsobjekt zu haben, wurde ein Virusmaterial hergestellt, das dem der Augangskultur unserer Passagen entsprach. Normale Hodengewebestückchen eines jungen Kaninchens wurden 5 Minuten in eine vakzinevirus-haltige Flüssigkeit getaucht, welche wie bei der Primärkultur gewonnen worden war. (Ein Kaninchenhoden mit einer nicht zu starken Orchitis vaccinica wurde im Gewebequetscher nach A. Fischer zerquetscht und im Achatmörser sorg-

fältig verrieben, im Verhältnis von etwa 1:5 mit Ringer-Lösung verdünnt und dann 20 Minuten scharf zentrifugiert. Die überstehende Flüssigkeit diente zur Infektion des Gewebestückchens). Die Explantate wurden nach einer halben Stunde aus ihrem Plasmotropfen, in dem sie eingebettet worden waren, wieder herausgenommen und ebenfalls im Achatmörser mit 2 ccm Ringer-Lösung sehr fein verrieben. Das in den Gewebekulturen vorhanden gewesene Vakzinevirus ist dann etwa im Verhältnis von 1:20 verdünnt worden.

Mit der Aufschwemmung der Explantate der 24. Passage sowie mit der Kontrollaufschwemmung wurden zunächst zur qualitativen Prüfung die Hornhäute je eines Kaninchens mit je 0,1 ccm beimpft. Zur quantitativen Auswertung wurden alsdann von den gleichen Aufschwemmungen fallende Verdünnungen von 1:100, bis 1:10000 hergestellt und in Mengen von je 0,5 ccm intratestal auf Kaninchen verimpft.

Tabelle II.

Auswertung der 24. Vakzinevirus-Gewebekulturpassage. Intratestale Injektion des Virusmaterials von 20 Kulturen mit fallenden Virusmengen an 6 Kaninchen. 1 korneale Kontrolle.

Kan. Nr.	Datum d. Hodeninjektion	Menge des injiziert. Virus	Verdünnung	Sektionsergebnis am 28. 2.	Bemerkungen
1	23. 2.	in jed. Hoden 1 ccm	1:20 (Ausgangsverdünnung)	Beide Hoden stark vergrößert, stark hämorrhagisch, sulzig, ödematös	Orchitis vaccinica beiderseits
2	dgl.	dgl.	1:100	dgl.	dgl.
3	"	"	1:300	"	"
4	"	"	1:1000	"	"
5	"	"	1:3000	Beide Hoden vergröß. teilw. hämorrhag.	Verimpft auf Kan.-auge. 28. 2. Paul: +++
6	"	"	1:10000	dgl.	dgl. 29. 2. Paul: +++

Kornealkontrolle. 23. 2. Auf jede Kornea 0,1 ccm der Ausgangsverdünnung 1:20. Fluoresceinprobe nach 24 Stunden beiderseits: ++. Paulscher Versuch nach 48 Stunden beiderseits: +++.

Das Ergebnis dieses Prüfungsversuches ist in den Tabellen II und III niedergelegt. Wir sehen, daß sich an den mit dem gezüchteten Vakzinevirusmaterial der 24. Passage geimpften Kaninchenaugen bereits nach 24 Stunden bei der Fluoresceinprobe eine beträchtliche Infektion zeigte (zahlreiche Vakzineherde, Vergleichsgrad ++), und nach 48 Stunden ergab der Paulsche Versuch beiderseits dicht konfluierende Vakzineherde. (Vergleichsgrad +++). Dagegen verlief bei den mit frischem Vakzinevirusmaterial geimpften Kaninchenhornhäuten die Fluoresceinprobe in den beiden ersten Tagen negativ, und mit dem Paulschen Versuch konnte am dritten Tag beiderseits nur je ein Pockenherd nachgewiesen werden. Das durch 24 Passagen gezüchtete Vakzinevirus zeigte im Cornealversuch also eine stärkere Infektiosität als das ungezüchtete Virus.

Auch bei einer Gegenüberstellung der durch die intratestale Verimpfung mit fallenden Virusmengen gewonnenen Ergebnisse zeigt sich ein gleicher Unterschied: Das durch die Passagen gezüchtete Vakzinevirus vermochte

Tabelle III.

Kontrolle zu dem Auswertungsversuch der 24. Passage. Intratestale Injektion des Virusmaterials von 20 frisch angelegten primären Vakzinevirus-Hodengewebekulturen an 6 Kaninchen. 1 korneale Kontrolle.

Kan. Nr.	Datum d. Hoden-injektion	Menge d. injiziert. Virus	Verdünnung	Sektionsbefund am 1. bzw. 2. 3.	Bemerkungen
1	24. 2.	in jeden Hoden 1 ccm	1:20 (Ausgangsverdünnung)	beide Hoden vergröß. hämorrhag. sulzig-ödematös.	Orchitis vaccinica. Verimpft auf Kaninchenauge. 2. 3. Paul: bdts. +++
2	dgl.	dgl.	1:100	29. 2. tot interkurr. Ursache? Hoden o. B.	Verimpft auf Kaninchenaugen. 1. 3. Paul: bdts. +++
3	„	„	1:300	r. Hoden vergröß. mehr als l., geringe Hämorrhagie, Scrotum r. sulzig und ödematös.	dgl., 2. 3. Paul: bdts. +++
4	„	„	1:1000	r. Hoden etwas vergrößert mit beginnender Hämorrhagie.	dgl., 2. 3. Paul: bdts. +++
5	„	„	1:3000	beide Hoden nicht vergrößert, r. Herdbildung und Hyperämie.	dgl., 3. 3. Paul: bdts. +++
6	„	„	1:10 000	dgl.	dgl., 3. 3. Paul: bdts. +++

Kornealkontrolle. 24. 2. Auf jede Kornea 0,1 ccm der Ausgangsverdünnung 1:20. Fluorescinprobe nach 24 und 48 beiderseits: —. Paulscher Versuch nach 72 Stunden: beiderseits je 1 Pockenherd.

auch bei den schwächsten zur Anwendung gelangten Verdünnungen durchweg stärkere spezifische Entzündungserscheinungen hervorzurufen als die entsprechenden Verdünnungen des noch nicht kultivierten Vakzinevirus.

Prüfung der 29. Vakzinevirus-Gewebekulturpassage auf ihren Gehalt an Vakzinevirus.

Eine ebenso durchgeführte Auswertung wurde mit 20 Kulturen der 29. Passage ausgeführt. Die in dem vorhergehenden Auswertungsversuch erzielten Ergebnisse ließen es angebracht erscheinen, das in diesen Explantaten enthaltene Vakzinevirus in noch schwächeren Verdünnungen intratestal zu verimpfen (Tab. IV, S. 39).

Wie aus der Tabelle IV ersichtlich ist, vermochten in diesem Falle die Vakzinevirusverdünnungen von 1:10000 und 1:100000 spezifische Orchitiden von erheblicher Ausdehnung und Schwere hervorzurufen. Das mit der Verdünnung 1:1 Million infizierte Kaninchen starb bereits am ersten Tage interkurrent, so daß nicht entschieden werden kann, ob es auch bei diesem Tiere noch zu einer Orchitis vaccinica gekommen wäre.

Prüfung der 37. Vakzinevirus-Gewebekulturpassage auf ihren Gehalt an Vakzinevirus.

Schließlich wurden noch die Kulturen der 37. Passage nach verschiedenen Richtungen hin auf ihren Virusgehalt untersucht.

Tabelle IV.

Auswertung der 29. Vakzinevirus-Gewebekulturpassage Intratestale Injektion des Virusmaterials von 20 Kulturen mit fallenden Virismengen an 6 Kaninchen. 1 korneale Kontrolle.

Kan. Nr.	Datum d. Hodeninjektion	Menge d. injiziert. Virus	Verdünnung.	Sektionsergebnis am 31. 3.	Bemerkungen
1	24. 3.	in jeden Hoden 1 ccm	1:10000	Beide Hoden hyperäm. vergrößert, Herdbildungen; Scrotum sulzig ödematös.	Orchitis vaccinica verimpft auf Kaninchenaugen. 2. 4. Paul: bdts. +++
2	dgl.	dgl.	1:100000	Beide Hoden hämorrh. vergrößert. Scrotum sulzig, ödematös.	Orchitis. Verimpft auf Kaninchenaugen. 2. 4. Paul: bdts. +++
3	„	„	1:1 Million	26. 3. tot interkurrent	—
4	„	„	1:10 Millionen	o. B.	Verimpft auf Kaninchenaugen. Paul in allen Fällen: —
5	„	„	1:100 „	o. B.	
6	„	„	1:1 Milliarde	o. B.	

Kornealkontrolle 24. 3. Auf jede Kornea 0.1 ccm der Ausgangsverdünnung 1:20. Fluoresceinprobe nach 24 Stunden beiderseits: +++. Paulscher Versuch nach 48 Stunden beiderseits: +++.

a) Qualitative Prüfung von 10 einzelnen Explantaten im Cornealversuch auf Virusgehalt.

5 Kaninchen wurden corneal auf jedem Auge mit je einer Kultur infiziert. Ein Tier starb innerhalb von 24 Stunden interkurrent. Die übrigen 8 Kulturen ließen zum größten Teil bereits nach 24 Stunden einen erheblichen Virusgehalt erkennen. Nach 48 Stunden zeigten alle 8 Hornhäute fast durchgängig nur zahlreiche Pockenherde. — Es enthielt also jede der geprüften Vakzinevirus-Gewebekulturen der 37. Passage reichlich Virus.

Tabelle Va.

Auswertung der 37. Vakzinevirus-Gewebekulturpassage. Prüfung von 10 Einzelkulturen auf ihren Virusgehalt im Kornealversuch.

Kul.-Nr.	Beimpftes Auge	Fluoreszinprobe nach		Paulscher Versuch nach 72 Std.	Bemerkungen
		24 Std.	48 Std.		
1	rechts	+	+	++	Kaninchen Nr. 1
2	links	—	+	++	
3	rechts	+		++	„ „ 2
4	links	+		+	
5	rechts	+		++	„ „ 3
6	links	+		++	
7	rechts	++		+++	„ „ 4
8	links	+++		+++	
9 u. 10					„ „ 5 tot am 1. Tage

b) Qualitative Prüfung von 10 einzelnen Explantaten im Hodenversuch auf Virusgehalt.

10 Kulturen dieser Passage wurden zur intratestalen Beimpfung nach Ohtawara benutzt. Die Explantate wurden aus dem Plasma herausgenommen,

einzelnen im Mörser mit je $\frac{1}{2}$ ccm Ringer-Lösung verrieben und in den rechten Hoden je eines jungen Kaninchens eingespritzt. Wie die Tabelle Vb zeigt, wiesen die 9 am 5. Tage noch lebenden Tiere zum Teil recht ausgedehnte Vergrößerungen des infizierten und weniger stark als korrespondierende Erscheinung des nicht infizierten Hodens auf. Um nun festzustellen, ob das in diesen Gewebekulturen enthaltene Vakzinevirus virulent genug war, um nach cornealer Verimpfung auch im Gehirn nachgewiesen werden zu können, wurde Gehirnmateriale von 4 infizierten Kaninchen intratestal weiter verimpft. Die vier so infizierten Kaninchen bekamen eine Orchitis vaccinica, deren Spezifität noch besonders durch weitere corneale Verimpfung festgestellt wurde. Es kam beiderseits auf den Hornhäuten dieser Kaninchen zu zahlreichen Vakzineherden.

Tabelle Vb.

Auswertung der 37. Vakzinevirus-Gewebekulturpassage.
Prüfung von 10 Einzelkulturen auf ihren Virusgehalt im Hodenversuch.

Kan. Nr.	Art und Menge des eingespritzten Materials	Hoden	Sektionsbefund nach 5 Tagen	Hodengewebe auf Kaninchenauge geimpft. Paul:	Gehirnmateriale in Hoden gespritzt. Sektion:	Dieser Hoden auf Kaninchenauge geimpft. Paul:
1	1 Kultur in $\frac{1}{2}$ ccm Ringer verrieben	rechts	Schwere hämorrhag. Orchitis vaccinica mit Nekrosen			
2	dgl.	„	dgl.			
3	„	„	„			
4	„	„	„	beiderseits +++	Gehirn direkt auf Hornhaut geimpft	rechts: 1 Herd, links: 3 Herde
5	„	„	„	beiderseits +++	Orchitis vaccinica	beiderseitig +++
6	„	„	„	beiderseits +++	dgl.	beiderseitig — — —
7	„	„	„	beiderseits +++	„	beiderseits +++
8	„	„	„		„	beiderseits +++
9	„	„	„		„	beiderseits +++
10	„	„	tot nach 24 Std. Ursache? Hoden o. B.			

c) Quantitative Auswertung der 37. Passage.

Die Technik war die gleiche wie bei der Auswertung der 24. und 29. Passage. Von 20 Kulturen wurden Verdünnungen in fallenden Mengen bis zu 1:1 Million hergestellt und in die Hoden von 6 Kaninchen injiziert. Aus diesem Versuche ergibt sich eine gewisse Zunahme der Virulenz gegenüber den früheren einer gleichen Nachprüfung unterzogenen Passagen, denn es gelang, Virus noch in den mit einer Verdünnung von 1:1 Million infizierten Hoden durch Verimpfung auf die Kaninchenhornhaut bei der Auswertung im Paulschen Versuche nachzuweisen.

Tabelle Vc.

Auswertung der 37. Vakzinevirus-Gewebekulturpassage.

c) Quantitative Auswertung: Intratestale Injektion des Virusmaterials von 20 Kulturen mit fallenden Virusmengen an 6 Kaninchen. 1 korneale Kontrolle.

Kan. Nr.	Datum d. Hodeninjektion	Menge d. injiziert. Virus	Verdünnung	Sektionsergebnis am 14. bzw. 15. 5.	Bemerkungen
1	7. 5.	in jeden Hoden 1 ccm	1:10 000	Hoden hämorrhag. vergrößert mit zahlreichen Nekrosen Scrotum sulzig- ödematös	Orchitis vaccin. verimpft auf Kaninchenaugen 15. 5. Paul bds.: ++
2	dgl.	dgl.	1:100 000	dgl.	dgl., 16. 5. Paul bds.: ++
3	„	„	1:1 Million	o. B.	dgl. 18. 5. Paul bds.: +
4	„	„	1:10 Mill.	o. B.	dgl. 18. 5. Paul bds.: —
5	„	„	1:100 Mill.	o. B.	
6	„	„	1:1 Milliarde	o. B.	

Kornealkontrolle 7. 5. Auf jede Kornea 0,1 ccm der Ausgangsverdünnung 1:20. Fluoresceinprobe nach 24 Stunden beiderseits: +++. Paulscher Versuch nach 48 Stunden beiderseits: +++.

Schließlich sei noch ein Versuch erwähnt, in welchem wir in ähnlicher Weise wie H. Löwenthal für Vogelpocken eine Prüfung der Virusvermehrung in primären Vakzinevirus-Gewebekulturen nach einmaliger Bebrütung vorgenommen haben. In der üblichen bereits beschriebenen Weise wurden 40 Vakzinevirus-Gewebekulturen frisch angelegt. Von diesen wurden 20 unmittelbar nach der Anlage einer Auswertung mit fallenden Virusmengen durch intratestale Verimpfung nach dem bereits angegebenen Verfahren unterzogen. Die weiteren 20 Kulturen wurden zunächst 5 Tage bebrütet und dann in gleicher Weise untersucht.

Tabelle VI.

Auswertung von frisch angelegten Pockenvirus-Hodengewebekulturen:

a) vor der Züchtung, b) nach 5tägiger Züchtung, Intratestale Injektion des Virusmaterials von je 20 Kulturen mit fallenden Virusmengen an je 6 Kaninchen.

Kan. Nr.	Datum d. Hodeninjektion	Menge d. injizierten Virus	Verdünnung	Sektionsergebnis	Bemerkungen
a) vor der Züchtung					
1	30. 4.	in jeden Hoden 1 ccm	1:10 000	7. 5. o. B.	Verimpft auf Kaninchenaugen. 11. 5. Paul: —
2	dgl.	dgl.	1:100 000	7. 5. o. B.	dgl., Paul: —
3	„	„	1:1 Million	nach 24 Stunden tot interkurrent	
4	„	„	1:10 Million	14. 5. o. B.	„ 20. 5. Paul: —
5	„	„	1:100 „	14. 5. o. B.	„ Paul: —
6	„	„	1:1 Milliarde	14. 5. o. B.	„ Paul: —

Fortsetzung der Tabelle VI.

Kan. Nr.	Datum d. Hoden-injektion	Menge d. injizierten Virus	Verdünnung	Sektionsergebnis	Bemerkungen
b) nach 5 tägiger Züchtung					
1	5. 5.	in jeden Hoden 1 cem	1:10 000	11. 5. Beide Hoden hämorrhag., vergröß., sulzig-ödematös	Orchitis vaccinica. Verimpft auf Kaninchenaugen. 12. 5. Paul beiderseits: ++
2	dgl.	dgl.	1:100 000	dgl.	dgl., Paul bdts.: ++
3	„	„	1:1 Million	„	„ Paul bdts.: ++
4	„	„	1:10 Million.	14. 5. o. B.	Verimpft auf Kaninchenaugen. Paul bdts.: +
5	„	„	1:100 „	14. 5. o. B.	dgl., Paul bdts.: —
6	„	„	1:1 Milliarde	14. 5. o. B.	„ Paul bdts.: —

Bei einem Vergleich der erhaltenen Resultate zeigte sich, daß innerhalb der Züchtungsdauer von 5 Tagen eine Vermehrung des Virus stattgefunden hat. In der frisch angelegten, also noch nicht bebrüteten Vakzinevirusgewebekultur ließ sich in dem mit der Virusverdünnung 1:10000 beimpften und makroskopisch unveränderten Hoden kein Vakzinevirus durch Hornhautverimpfung nachweisen, während nach der 5tägigen Züchtung das Vakzinevirus noch in einer Verdünnung von 1:10 Millionen einige typische Vakzineherde an der Hornhaut zu erzeugen vermochte. Vor der Züchtung lag also der Infektionstiter unter 1:10000, dagegen waren nach 5tägiger Züchtung in einer Verdünnung von 1:10 Millionen noch infektiösfähige Keime vorhanden. Aus diesem Versuche läßt sich der Schluß ziehen, daß sich das Vakzinevirus innerhalb der 5tägigen Züchtungszeit erheblich vermehrt hat.

Ueberblicken wir nun die Ergebnisse, welche unsere Kulturversuche mit Vakzinevirus in der Gewebekultur gehabt haben, so ist festzustellen, daß im Verlaufe der Züchtung eine dauernde Vermehrung des Virus stattgefunden hat. Wie aus der Tabelle I hervorgeht, ist die in der Primärkultur vorhanden gewesene Vakzinevirusmenge rechnerisch im Verhältnis von etwa 1:80 Billionen aufgeteilt worden. Dies ist aber nur ein rein rechnerischer Befund. Berücksichtigt man noch den stetigen Abgang an Virus, das jeweils in den abgeschnittenen Rändern und den zurückbleibenden Fragmenten der vorhergehenden Kulturen ausscheidet, berücksichtigt man weiterhin noch einen gewissen Abgang an Virus ins Nährmedium, so dürfte sich der wirkliche Verdünnungsfaktor noch um ein weiteres recht beträchtlich erhöhen. Vermochten also die Gewebekulturen auch in den letzten Passagen immer noch so viel Virus herzugeben, daß sie auch bei dauernder Teilung in 2 bzw. 3 und mehr Fragmente ausgedehnte Cornealdefekte oder starke Orchitiden erzeugen konnten, so kann man wohl mit Sicherheit annehmen, daß bei der im Verlaufe der Passagen erzielten Aufteilung der ursprünglichen Virusmenge nicht nur eine dauernde Uebertragung des Virus von Explantat zu Explantat und eine Konservierung desselben erfolgte, sondern auch eine Vermehrung des Vakzinevirus in jeder Subkultur stattgefunden hat.

Es sei nun noch kurz auf einige Versuche mehr orientierender Art hingewiesen. Das Plasma eines Kaninchens mit Orchitis vaccinica lieferte, frisch aus dem Tier entnommen, keine spezifischen Hornhautveränderungen. Hoden-

impfungen wurden in diesem Falle nicht ausgeführt. Züchtete man nun normales Lungengewebe in diesem Plasma, so konnten mit solchen Gewebekulturen, selbst wenn das Nährmedium auf 10 Teile nur 1 Teil virusverdächtiges Plasma enthielt, in jedem Falle einige typische Vakzineherde auf der Hornhaut erzeugt werden. Es dürfte somit in der Gewebekultur eine Vermehrung des in dem Plasma wahrscheinlich nur in geringsten Mengen vorhanden gewesenen Vakzinevirus stattgefunden haben.

Bei den Versuchen der Vakzineviruskultur in Verbindung mit Gewebe-explantaten wurden abgesehen von der Hornhaut von den Autoren bisher im allgemeinen Organstückchen verwendet, welche nicht nur eine einzige, sondern vielerlei Zellarten enthielten. Es dürfte für weitere Züchtungsversuche nicht unwichtig sein, zu erkennen, welche Zellarten die optimalen Lebens- und Vermehrungsbedingungen für das Virus liefern. Zur Entscheidung dieser Frage dürfte es vielleicht nicht angebracht sein, embryonales Gewebe, welches bekanntlich größere Entwicklungspotenzen hat als erwachsenes, zu benutzen. Mehrfach wurde — wie bereits erwähnt — das Hodengewebe als gutes Züchtungsmittel erkannt. Auch Lungengewebe eignet sich nach unserer Erfahrung. Um nun möglichst mit einer Zellart zu arbeiten, untersuchten wir weiterhin noch das Verhalten von Monozyten zum Vakzinevirus. Die aus dem strömenden Blute eines kutan in großer Ausdehnung mit Vakzine geimpften Kaninchens gewonnenen weißen Blutkörperchen vermochten in der üblichen Größe einer Gewebekultur in den Hoden eingespritzt keine Orchitis vaccinica zu erzeugen. Mit dem gleichen Material angelegte Kulturen ergaben aber nach 5tägiger Züchtung bei Verimpfung auf die Kaninchenhornhaut in allen Fällen positive Herde, die auf einigen Hornhäuten sogar recht zahlreich waren. Wie lange sich das Vakzinevirus von Monozytenkultur zu Monozytenkultur auch unter Aufteilung fortzüchten läßt, müssen weitere Versuche entscheiden. Die Züchtungsversuche sind hier viel schwieriger als mit Organ- oder anderen zusammenhängenden Gewebsfragmenten. Bisher wuchsen nur die ersten Subkulturen reiner Monozyten weiter, die sich auch im Kornealversuch noch als virushaltig erwiesen. Es wird weiterhin wertvoll sein, zu erforschen, zu welchen Zellen das Pockenvirus in vitro eine besondere Affinität hat, insbesondere ob eine chemische Affinität zu bestimmten Bestandteilen einer Zelle besteht, welche eine andere Zelle nur in geringem Maße oder auch gar nicht hat.

Eingehend haben wir uns mit der Frage beschäftigt, ob in den Vakzine-Viruskulturen Guarnierische oder Paschensche Körperchen nachweisbar sind. Unsere Bemühungen, diese Einschlußkörperchen in den Zellen der Gewebekulturen nachzuweisen, sind bisher ohne jeden Erfolg geblieben. Gewiß kommen in den Vakzinevirus-Gewebekulturen Gebilde vor, welche eine Ähnlichkeit mit den Guarnierischen Körperchen besitzen, aber bei genauer Beobachtung als solche nicht anerkannt werden können. Auch das Suchen nach Paschenschen Körperchen war vergeblich. Bisher sind — das sei hier nochmals betont — Guarnierische und Paschensche Körperchen nur in der Haut und in der Hornhaut mit Sicherheit und einwandfrei nachgewiesen worden. Wir sehen also, daß die mikroskopische Untersuchung einer Vakzinevirus-Gewebekultur keinerlei Aufschluß darüber gibt, ob die Kultur erfolgreich gewesen ist, auch makroskopisch bietet die Gewebekultur keinerlei Anhalt dafür, sofern das Gewebe gewachsen ist. Es bleibt also einzig und allein die Uebertragung auf das Versuchstier übrig. Und das ist es, was vorläufig noch die Züchtung des Vakzinevirus in der Gewebekultur zu einem großen Geduldspiel macht. Weiteren Versuchen muß es vorbehalten bleiben, ob es möglich ist, von diesen Vakzinevirus-Gewebekulturen zu zellfreien Viruskulturen zu gelangen.

Bei dem Nachweis und der Auswertung des Vakzinevirus in meinen Gewebekulturen sowie bei den histologischen Untersuchungen bin ich von Herrn Professor Gildemeister und Herrn Dr. Heuer unterstützt worden. Ich möchte den beiden Herrn auch an dieser Stelle meinen besten Dank aussprechen.

Zusammenfassung.

Das Vakzinevirus läßt sich im Hodengewebeexplantat zur Vermehrung bringen und in Passagen beliebig lange fortzüchten, sofern die Gewebeexplantate etwa jeden 5.—6. Tag geteilt und zu frischen Explantaten zugesetzt werden.

Die Virulenz des in dieser Weise gezüchteten Vakzinevirus blieb im Verlaufe einer Kultivierung von etwa 8 Monaten in 37 Passagen größtenteils unverändert; in einigen Fällen kam es sogar zu einer Virulenzzunahme.

Literatur.

1) E. Steinhardt und R. A. Lambert, Journ. of inf. Dis. Vol. 13. 1914. p. 294; Vol. 14. 1914. p. 87. — 2) H. A. Gins, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 28. 1916. S. 98. — 3) J. W. Hach, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 94. 1925. S. 270. — 4) Fr. Parker, Journ. of med. Research. Vol. 44, 1924. p. 645. — 5) Ders. u. R. N. Nye, Amer. Journ. of Pathol. 1925. p. 1. — 6) Craciun u. Oppenheimer, Journ. of exper. Med. Vol. 43. 1926. p. 815. — 7) A. Carrel u. Th. M. Rivers, C. r. Soc. de Biol. T. 96. 1927. p. 848. — 8) H. Löwenthal, Klin. Wochenschr. Bd. 7. 1928. S. 349. — 9) H. A. Gins, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 89. 1928. S. 285. — 10) T. Ohtawara, Scient. Reports from the Gouvernment Instit. for Infect. Diseases. Vol. 1. 1922. p. 203. — 11) E. Gildemeister u. G. Heuer, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 106. 1928. S. 58.

Nachdruck verboten.

Ein Beitrag zur experimentellen Erzeugung von Tiertumoren.

[Aus der wissenschaftlichen Abteilung des Serumwerkes Schmidt in München (Abteilungsleiter: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. M. Beck).]

Von **W. Schmidt.**

Bei der experimentellen Erzeugung von Tumoren wird fast stets mit mehreren Faktoren gearbeitet, von denen der eine die Rolle eines exogenen oder endogenen Reizes spielt, also als Aktivator oder Katalysator wirken soll. Auch bei Verwendung von Parasiten zur Erzeugung von bösartigen Geschwülsten wurden von den meisten Forschern aktivierende Mittel hinzugenommen, da sonst die Tumoren ausblieben. Nur Blumenthal und seinen Mitarbeitern gelang es einige Male, auch ohne Hinzunahme aktivierender Mittel mit seinen Bakterienstämmen echte Tumoren zu erzeugen. Ausnahme bilden noch die Versuche mit Rousschen Hühnersarkomen, wo es gelang, allein mit Blut von tumorbehafteten Hühnern wieder Rous-Tumoren zu erzeugen.

In der letzten Zeit wurde wiederholt die Ansicht vertreten, Regenerationsvorgänge der Zelle in Verbindung mit kontinuierlichen Reizen führten zur Tumorbildung. Auch wurde den Monozyten zusammen mit einem noch unbekannten chemischen Stoff, etwa einem Enzym, Ferment oder Vitamin tumor-

erzeugende Eigenschaften zugesprochen und das Krebsproblem als ein Stoffwechselproblem hingestellt.

Um so mehr dürften Versuche Interesse haben, wo das „*Ens malignitatis*“ sich nicht als ein intrazellulär auswirkender Vorgang dokumentiert, sondern wo ein von außen kommender Faktor in Form eines Kleinlebewesens zur Krebsbildung bei hierzu disponierten Tieren führen kann, ohne daß zahlreiche aktivierende Mittel hinzugenommen werden und auch nicht die Tiere durch Blockierung des retikulo-endothelialen Apparates ihrer Abwehrkräfte beraubt oder durch chronische Vergiftung, z. B. durch Verfütterung von Liquor Kalii arsenicosi in ihrer Widerstandskraft extrem geschädigt waren.

Es handelt sich hier um Versuche, bei Mäusen durch eine einmalige subkutane Impfung mit Reinkulturen des O. Schmidtschen Parasiten Tumoren zu erzeugen unter Verzicht jeglichen exogenen oder endogenen Reizes und aller sonstigen vorbereitender Maßnahmen. Es wurden nur Tiere ausgewählt, die sich im besten Gesundheits- und Futterzustandes befanden, die Ernährung erfolgte, wie bis zum Tage der Impfung, durch Milch und Brot ohne Kürzung der Rationen. Die Entstehung der Tumoren dürfte unter diesen Verhältnissen daher um so bedeutsamer sein.

Versuch 1. Zu dem 1. Versuch wurde eine Reinkultur des Schmidtschen Krebsparasiten verwandt, die schon 48mal auf künstlichem Nährsubstrat überimpft worden war. Die Kultur stammte aus einem mikroskopisch sichergestellten Darmkarzinom und war im Mukor als Zwischenwirt weiter gezüchtet worden. Zuerst wurde der in dem Wirt lebende Parasit einer Maus subkutan eingespritzt und aus dem Herzblut der Maus dann der Parasit reingezüchtet. Nachdem der Parasit in der Kulturflüssigkeit nachweisbar war, wurden mit dieser Reinkultur 10 Mäuse subkutan an der rechten Bauchseite geimpft, nachdem zuvor durch Entnahme von Blut aus der Schwanzwurzel der Mäuse durch Kulturversuche festgestellt worden war, daß das Blut keimfrei, die Tiere also nicht stallinfiziert oder spontan infiziert waren. Es wurden zur Impfung je 0,1 ccm einer 7tägigen Kultur gewählt.

Nach $3\frac{1}{2}$ Monaten zeigte eine Maus am rechten Unterkiefer eine erbsengroße Geschwulst, die innerhalb weiterer 4 Wochen bis zur Bohnengröße heranwuchs. Der Tumor brach auf, und die Maus ging an Kachexie zugrunde, indem auch durch Behinderung in der Nahrungsaufnahme starke Abmagerung eingetreten war. Die mikroskopische Untersuchung ergab: Karzinom. Keine Metastasen nachweisbar.

$4\frac{1}{2}$ Monate nach der Impfung hatte sich bei einer 2. Maus auf dem Rücken ein erbsengroßer Tumor entwickelt, der eine Verkrümmung der Wirbelsäule hervorrief. Der Tumor wuchs in der Folgezeit nur langsam und brach auf, nachdem inzwischen eine Lähmung der hinteren Extremitäten eingetreten war. Tod 5 Monate nach der Impfung. Jauchig zerfallender Tumor. Mikroskopisch: Karzinom. In der Lunge und Leber makroskopisch wie mikroskopisch zahlreiche Metastasen, die in ihrem histologischen Aufbau dem Primärtumor glichen.

In den ersten 5 Monaten waren 2 Mäuse interkurrent verendet. Nach 8 Monaten waren noch 5 Mäuse übrig, von denen keine einen Tumor zeigte.

Versuch 2. Zu diesem Versuch wurden 20 weiße Mäuse verwandt. Auch diese Mäuse waren im besten Futterzustand und wurden wie bis zum Tage der Impfung mit Brot und Milch ohne Verkürzung der Rationen weiter gefüttert. Ebenfalls war von sämtlichen Mäusen das Blut auf Keimfreiheit untersucht worden. Die zu dieser Impfung verwandte Kultur des Schmidtschen Krebsparasiten stammte aus einem Mammarkarzinom, war mehrmals überimpft worden und hatte zuletzt zur Steigerung ihrer Virulenz eine mehrmalige Tier-

passage durchgemacht. Zur Verwendung kam eine 8 Tage alte Bouillonkultur ohne Zwischenwirt. Eingespritzt wurden je 4—5 Tropfen subkutan an der rechten Bauchseite. Unter den 20 weißen Mäusen befanden sich 14 weibliche und 6 männliche Tiere. Nach 4 Monaten zeigte eine Maus einen stecknadelkopfgroßen Tumor an der rechten Brustdrüse. Nach 6 Monaten — es waren nur noch 15 Tiere am Leben — konnten bei 7 Tieren Tumoren von Erbsen- bis Kleinbohnengröße festgestellt werden. Sitz der Tumoren 2mal auf dem Rücken, 1mal am rechten Oberschenkel, 2mal Brustdrüse, 1mal Bauchhöhle. Hier eine Aussaat von ca. 30 stecknadelkopf- bis linsengroßen Metastasen auf dem Bauchfell. Tumorbildung wahrscheinlich vom Magen ausgehend. Die 7. Maus zeigte zahlreiche kleine Knötchen in der Lunge. Obgleich sonst kein Tumorbefund festgestellt werden konnte, der als Sitz des Primärtumors angenommen werden konnte, müssen die kleinen Knötchen in der Lunge doch als Metastasen angesprochen werden, während der primäre Krankheitsherd nicht nachweisbar war. Bei zwei der mit Tumoren behafteten Tieren fanden sich noch Lebermetastasen vor. Der mikroskopische Befund ergab bei 6 der erkrankten Tiere sowohl der Primärtumoren als auch der Metastasen: Karzinom. Der Tumor am rechten Oberschenkel zeigte noch Bindegewebspartigen. Stroma sehr gering. Sehr große Zellen mit zwei, drei und mehr Kernen auch zwischen den Muskelfasern. Dieser Tumor wurde als großzelliges Rundzellensarkom angesprochen.

An dem Tage, wo die 6 Tumormäuse getötet wurden — die Maus mit der Bauchfellkarzinose war einen Tag vorher eingegangen — war das Sarkom und zwei Karzinome schon aufgebrochen. Das Impfresultat war in dieser Versuchsreihe bei 20 Tieren gleich 35 Proz. Rechnet man jedoch die interkurrent bis zu diesem Tage eingegangenen 5 Tiere ab, so würde die Impfausbeute bei 15 Tieren gleich 46,6 Proz. sein.

Versuch 3. 5 Tauben wurden intravenös mit 0,5 ccm einer Reinkultur des Schmidtschen Krebsparasiten gespritzt. Nach 8 Monaten zeigte ein Tier starke Abmagerung bei stark aufgetriebenem Leib. Plötzlich Exitus. In der Bauchhöhle wurde ein klein-äpfelgroßer Tumor, von der Leber ausgehend, gefunden, der sehr hart war. Mikroskopische Untersuchung (Aschoff): Ein in das Lebergewebe infiltrierend vorgeschobener Tumor. Innerhalb der Geschwulst sind nur noch vereinzelte Reste von Gallenwegen zu finden. Die Geschwulst muß daher als bösartig bezeichnet werden. Die Geschwulst besteht aus sehr locker liegenden, andeutungsweise alveolär angeordneten polyedrischen Elementen, die einen großen, vorwiegend rundlichen bläschenförmigen Kern tragen, in dem ein zartes Chromatingerüst mit mehreren deutlichen Kernkörperchen zu sehen ist. Die kleinalveoläre Anordnung der Geschwulst wird durch Zwischenlagerung kleiner, fast lymphozytärer Elemente mit mehr pyknotischen Kernen gestört. Ziemlich reichlich Kernteilungsfiguren in den Geschwulstzellen. Das Ganze macht durchaus den Eindruck einer Geschwulst und nicht eines einfachen Granulationsgewebes. Die Geschwulst könnte man am besten als kleinalveoläres Sarkom bezeichnen.

Die übrigen 4 Tauben entzogen sich durch Flucht der weiteren Beobachtung.

Versuch 4. Zum Schlusse möchte ich noch als letzte Versuchsreihe einen Impfversuch an Meerschweinchen bringen, der deshalb besonderes Interesse haben dürfte, weil die Impfversuche bei dieser Tierart, wo spontan meines Wissens noch niemals bösartige Gewächse beobachtet wurden, bisher immer erfolglos geblieben sind, und auch der Versuch einer Erzeugung von Teerkarzinomen bisher immer negativ verlief. Diese Versuche liegen zwar

schon viele Jahre zurück und fanden infolge Kriegsausbruchs ein unwillkürliches Ende.

10 farbige Meerschweinchen, 5 männliche und 5 weibliche Tiere, von ca. 350—400 g Gewicht, erhielten subkutan auf dem Rücken eine einmalige Injektion von 0,2 ccm einer Reinkultur des Schmidtschen Krebsparasiten. Kultur Sch. 7, die von einem Mammakarzinom stammte und schon 27mal auf Bouillon überimpft worden war. Auch hier wurde auf die Anwendung aktivierender Mittel oder sonstiger Maßnahmen verzichtet und die Tiere in derselben Weise wie bis zum Tage der Impfung weiter gehalten.

14 Tage nach der Impfung konnte bei allen Tieren eine zum Teil sehr starke Anschwellung der Axillardrüsen und Leistendrüsen festgestellt werden, die nach weiteren 3 Wochen verschwunden war. Nach 7 Monaten wurde bei einem weiblichen Tier eine leichte Verhärtung der linken Brustdrüse gefunden. Das Tier hatte schon mehrmals geworfen. Ein männliches Tier zeigte zu derselben Zeit, ungefähr $1\frac{1}{2}$ cm von der Einstichstelle (Impfstelle) entfernt, also ungefähr dort, wo bei der Injektion die Kultur hingelangt war, eine derbe erbsengroße Geschwulst, fest auf der Unterlage aufsitzend. Rasches Wachstum der beiden Tumoren, die nach 8 Monaten schon Bohnengröße bzw. Walnussgröße erreicht hatten. Inzwischen konnten bei 2 weiteren Tieren auf dem Rücken linsengroße Tumoren deutlich gefühlt werden, die jedoch in der Folgezeit wieder verschwanden.

Das Meerschweinchen mit dem Mammatumor wurde, da es stark abgemagert war, getötet, ein Teil des Tumors zur histologischen Untersuchung entnommen, der übrige Teil zur Transplantation auf 10 Meerschweinchen verwandt. Der Tumor, der Walnussgröße erreicht hatte, war im Innern schon stark nekrotisch. Mikroskopisch: Granulom, also eine entzündliche Geschwulst ohne destruierende Wachstumsänderung, obgleich makroskopisch der Tumor das Bild eines schon stark im Zerfall begriffenen Sarkoms bot. Auch Lubarsch begutachtet den Tumor auf Grund der Schnittpreparate als Granulom, wenn auch mit einigen suspekten Stellen.

Von den 10 transplantierten Tieren gingen 2 nach 17 Tagen an. Die Tumoren wurden jetzt, sobald sie Erbsengröße erreicht hatten, auf weitere 10 Tiere überpflanzt und die Transplantation bis zur 10. Generation fortgesetzt. Die letzte Transplantation ergab eine Ausbeute von 70 Proz. Eine Fortsetzung der Versuchsreihe wurde durch Kriegsausbruch verhindert und auch eine mikroskopische Untersuchung der bei jeder Transplantation in Formalin zurückgehaltenen Stückchen hierdurch unmöglich gemacht.

Das 2. Meerschweinchen war ca. 10 Monate nach der Impfung unter zunehmender Kachexie zugrunde gegangen. Der pflaumengroße Tumor war aufgebrochen und verjaucht und fast vollständig nekrotisch. Die zur mikroskopischen Untersuchung aufbewahrten Stückchen teilten das Schicksal der anderen Tumorstückchen.

Es war also auch hier durch einmalige Einspritzung mit dem Schmidtschen Parasiten gelungen, Tumoren zu erzeugen, die makroskopisch und biologisch das Bild bösartiger Gewächse boten, während der histologische Aufbau des einen Tumors die Bedingung nicht erfüllte, um als maligne auf Grund seines morphologischen Verhaltens bezeichnet werden zu können. Trotz dieses mikroskopischen Befundes ließ sich der Tumor über 10 Generationen transplantieren und zeigte bei der Uebertragung eine zunehmende Virulenz, was sich insbesondere dadurch dokumentierte, daß niemals auch die durch Transplantation erzeugten Tumoren spontan zurückgingen und bei der 10. Generation eine Ausbeute von 70 Proz. erzielt wurde. Alle Tiere gingen, soweit sie nicht

zwecks mikroskopischer Untersuchung und zur Transplantation Verwendung fanden, an ihren Tumoren zugrunde.

Die Annahme ist wohl berechtigt, daß sich erfahrungsgemäß benigne Tumoren nicht transplantieren lassen, daß das ein Wachstum auslösende Moment hier sich noch nicht in Veränderung der Zellen durch Bildung von Riesenzellen und Kernteilungsfiguren angedeutet hatte, obwohl makroskopisch der Tumor als Sarkom imponierte, daß jedoch das tumorerzeugende Agens mitübertragen wurde. Es darf wohl die Vermutung ausgesprochen werden, daß die späteren Generationen des Tumors mikroskopisch ein anderes Bild als der Ausgangstumor geboten hätten.

Die experimentelle Erzeugung von bösartigen Gewächsen ist mir auch bei Ratten gelungen, und wurden auf Veranlassung von Opitz vor 2 Jahren Impfversuche bei Ratten in der Universitäts-Frauenklinik in Freiburg durchgeführt, die leider durch seinen unerwarteten Tod ein vorzeitiges Ende fanden, die jedoch auch zu positiven Erfolgen geführt haben, über die Rehorn in der Zeitschrift für Krebsforschung berichtet hat.

Literatur.

Blumenthal, Dtsch. med. Wochenschr. 1925. Nr. 32; 1926. Nr. 10 u. 11. — Blumenthal, Auler u. P. Meyer, Klin. Wochenschr. 1924. Nr. 23. — O. Schmidt, Monatsh. f. Geburtsh. u. Gynäkol. Bd. 17. — Ders., Münch. med. Wochenschr. 1906. Nr. 4. — Ders., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 47. 1908. Bd. 52. 1909. — Ders., Zeitschr. f. Krebsf. Bd. 23. 1926. H. 6. — W. Schmidt, Journ. of Cancer, Dublin. Juli-Sept.-Heft. 1926. — Ders., Vortrag, gehalten im Cancer Research Fund, Dublin, Journ. of Cancer. 1927. Januar-Heft — Rehorn, Zeitschr. f. Krebsforsch. Bd. 26. 1928. H. 4.

Nachdruck verboten.

Die Immunisation mit Hilfe von Bayer 205 (Naganol) gegen die Beschälseuche.

[Aus der Protozoologischen Abteilung des Veterinär-Bakteriologischen Instituts zu Leningrad (Petrograd) (Leiter der Abteilung Prof. W. L. Yakimoff) und der Veterinärklinik zu Pjatigorsk (Leiter Tierarzt W. S. Belawine).]

Von Prof. Dr.-med. u. med.-vet. **W. L. Yakimoff**
und Tierärzten **W. S. Belawine** und **S. F. Rubkewitsch**.

Durch eine Reihe von Experimenten ist bewiesen worden, daß Bayers 205 (Naganol) außer seiner merkwürdigen Wirkung bei der Behandlung von Trypanosomen noch eine starke prophylaktische Eigenschaft besitzt. In Deutschland sind solche Angaben von Zeiss und anderen gemacht worden und bei uns in U.S.S.R. haben Yakimoff, Fr. Wassilewsky und Fr. Markoff-Petrasczewsky gezeigt, daß eine vorläufige Behandlung der Versuchstiere mit Naganol diese vor mehrmaliger Infektion, manchmal im Laufe von 5 Monaten, behütete. Vom Experimente ging man später auf den praktischen Boden über. Yakimoff, Amanschuloff, Arbuzoff und Tchernomorskoff (1926) behandelten in einer Kamelherde eine gewisse Anzahl dieser Tiere unter Bedingungen, welche zur Ansteckung an Trypanosomose (*Trypanosoma ninae* kohl-yakimov Yakimoff, 1918), günstig waren. Am Ende des Sommers zeigte sich dann, daß unter den mit Naganol behandelten Tieren keins erkrankte, während unter den nicht mit Naganol bearbeiteten 70 Proz. infiziert waren. Die Autoren schließen daraus, daß unter natürlichen Bedingungen Bayer 205 vor einer Infektion 3 Monate lang schützt.

Noch vor Ausführung der letzteren Arbeit äußerte Yakimoff 1925 in seinem Artikel über die Beschälseuche der Pferde in der Krim den Gedanken, daß es möglich sei, Hengste, welche zur Beschälung geschickt werden, bei vorläufiger Behandlung mit Naganol¹⁾ von der Infektion mit Beschälseuche zu schützen.

Ein diesbezüglicher Rat wurde von mir 1924 dem Simferopoler Staatspferdestall erteilt, wurde jedoch von letzterem aus Gründen, die nichts mit der Wissenschaft zu tun haben, nicht befolgt, so daß eine ganze Reihe von Hengsten erkrankte.

Anfang 1927 beschlossen wir dann, einen solchen Chemoimmunisationsversuch der Hengste im Staatspferdestall zu Pjatigorsk (Nordkaukasus) vor Ansendung der Hengste auf die Beschälungspunkte anzustellen. Wir wählten zu diesem Zweck 32 Hengste, von denen 11 am 18. 2. intravenös Naganol eingeführt wurde.

Wir teilten alle Hengste in 4 Gruppen:

I. Gruppe: 11 Pferden wurden bis 3 g Naganol eingeführt. Die Injektion fand 1mal vor der Absendung auf die Beschälungspunkte statt:

Vor 2 Tagen bei 1	vor 15 Tagen bei 1	vor 25 Tagen bei 1
„ 5 „ „ 2	„ 16 „ „ 1	„ 28 „ „ 1
„ 7 „ „ 3	„ 21 „ „ 1	

II. Gruppe (6 Pferde). Naganol wurde 2mal (2,0 g per Injektion) vor der Expedition auf die Beschälungspunkte eingeführt mit einem Intervall von 5 Tagen zwischen beiden Injektionen. Die Injektion erfolgte vor dem Expedieren auf die Beschälungspunkte:

Vor 4 Tagen bei 1,	vor 9 Tagen bei 1,	vor 29 Tagen bei 1
„ 6 „ „ 1,	„ 21 „ „ 2.	

III. Gruppe. (9 Pferde), Naganol wurde 2mal eingeführt: 1) (einmalige Injektion) vor der Absendung auf die Beschälungspunkte (im Quantum von 3,0 g bei 8 und 3,5 bei 1) und 2) in der Mitte der Beschälungskampagne:

nach 19 Tagen nach Einführung der	1. Dosis bei 1
„ 74 „ „ „ „	1. „ „ 1
„ 94 „ „ „ „	1. „ „ 1
„ 97 „ „ „ „	1. „ „ 1
„ 98 „ „ „ „	1. „ „ 1
„ 103 „ „ „ „	1. „ „ 1
„ 108 „ „ „ „	1. „ „ 1
„ 112 „ „ „ „	1. „ „ 1
„ 118 „ „ „ „	1. „ „ 1

Die Dosis war: 2,0 g bei 7 und 2,5 g bei 2.

IV. Gruppe (6 Pferde). Vor Absendung auf die Beschälungsstellen wurde eine 2malige Injektion (zu 2,0 g — 5 und 3,0 g — I) in einem Zeitraume von 5 Tagen (bei allen) und zunächst noch in der Mitte der Kampagne (bei 2 à 2,5 g und bei 4 à 2,0 g):

nach 75 Tagen nach Einführung der	2. Dosis bei 2
„ 91 „ „ „ „	2. „ „ 1
„ 116 „ „ „ „	2. „ „ 2
„ 128 „ „ „ „	2. „ „ 1

Alle Hengste wurden auf die Beschälungsstellen expedit:

II.— 16 — 5 Pferde	26 — 1 Pferd,	19 — 2 Pferde,
19 — 2 „	17 — 3 „	29 — 2 „
22 — 1 „	III.— 1 — 2 „	V.— 26 — 1 „
24 — 3 „	11 — 4 „	28 — 1 „
25 — 1 „	15 — 1 „	29 — 1 „

18 Beschälungsstellen, von denen 4 aus früheren Jahren, waren hinsichtlich der Beschälseuche als gefährdet bekannt:

1) Yakimoff, W. L., Die Beschälseuche der Pferde in der Krim. (Veterinarhoje Delo. 1925. [russisch]).

- 1) Staniza Zolskaja. In der Beschälungskampagne 1924 erkrankten 2 Hengste.
- 2) Stadt Prikumsk. In der desselben Jahres 1 Hengst.
- 3) Staniza Goriatschewodskaja. In der desselben Jahres 1 Hengst.
- 4) Dorf Arsgir. In der desselben Jahres 1 Hengst.
- 5) Dorf Woronzowo-Alexandrowskoje. In der desselben Jahres 1 Hengst.

An einige Stellen wurden außer den mit Naganol immunisierten Hengsten noch als

Kontrolltiere unimmunisiert geschickt:

1)	Nach Prikumsk	1	immunisiert u.	1	nichtimmunisiert
2)	„ Essentuki	4	„ „	4	„
3)	„ Staniza Suworowskaja	2	„ „	1	„
4)	„ „ Nowo-Pawlowskaja	1	„ „	1	„
5)	„ „ Marjinskaja	2	„ „	2	„
6)	„ „ Staro-Pawlowskaja	1	„ „	1	„
7)	„ Alexandrowskaja	1	„ „	1	„
8)	„ d. Dorf Woronzowo-Alexandrowskoje	1	„ „	1	„
9)	„ „ „ Obilnoje	1	„ „	1	„
10)	„ „ „ Stepnoje	1	„ „	1	„
11)	„ „ Staniza Naurskaja	2	„ „	2	„

In folgende Stellen wurde nur immunisierte Tiere ohne Kontrolltiere geschickt: Zolskaja (2), Kislowodsk (2), Skatschki (2), Goriatschewodskaja (2), Mosdok (2), Georgiewsk (3) und Arsgir (2).

Im ganzen waren auf diesen Stellen von 32 immunisierten 16 kontroll-unimmunisierte. Die Hengste kehrten von den Stellen in der Zeit vom 26. 5. bis zum 25. 7. zurück, und zwar kehrten alle immunisierten Hengste gesund zurück; sie zeigen bis jetzt keine Merkmale einer Erkrankung an Beschälseuche.

Von den nichtimmunisierten kamen 2 mit Merkmalen der Beschälseuche zurück:

1) Beschälungsstelle Prikumsk: Im vorigen Jahre (1926) erkrankten dort 2 Hengste („Good boy“ und „Beck III“). 2 Hengste wurden geschickt: 1) 1 am 26. 2. durch einmalige Injektion (3,0 g) immunisierter „God-Goob“ kehrte gesund zurück, 2) der nichtimmunisierte „Fulerton“ aber mit Symptomen der Beschälseuche.

II. Beschälungsstellen in Novo-Pawlowskaja. Geschickt wurden 2 Hengste: 1) der am 9. 6. durch 1malige Injektion (2,5 g) immunisierte „Ismennik“ kehrte gesund zurück, 2) der unimmunisierte „Ogren“ aber mit Symptomen der Beschälseuche.

Die in die Beschälseuchenester geschickten 2 immunisierten Hengste in die Staniza Zolskaja (ohne Kontrolltiere), 2 immunisierte Hengste in die Staniza Goriatschewodskaja (ohne Kontrolltiere), 2 immunisierte Hengste nach Arsgir (ohne Kontrolltiere) und 1 immunisierter Hengst in das Dorf Woronzowo-Alexandrowskoje (bei 1 Kontrolltier) kehrten alle gesund zurück, desgleichen auch alle übrigen unimmunisierten Hengste.

Unser Versuch zeigte also, daß von 32 auf verschiedene Art mit Naganol immunisierten Hengsten nach der Beschälungskampagne keiner erkrankte, wogegen von den 16 Kontrolltieren 2 erkrankten (12,5 Proz.).

Außerdem zeigte noch ein Hengst („Ussatsch“) in dieser Kampagne Symptome der Beschälseuche, welcher auf einer Stelle im Dorf Solomenskoje war, ohne ein immunisiertes Tier.

Die klinische Diagnose wurde durch die mikroskopische Untersuchung der Abschabung von der Schleimhaut des Harnkanals bestätigt, da Trypanosomen gefunden wurden.

Dieser Versuch veranlaßt uns, ihn im nächsten Jahre zu wiederholen, wobei wir 4 Immunisationsmethoden zu 1 zusammenfassen wollen.

1) Wir nehmen daher an, daß eine solche Immunisation das kostbare Zuchtmaterial vor der Beschälseuche bewahren wird. — 2) Eine 1malige Injektion vor der Absendung auf die Stelle und eine Wiederholung derselben während der Beschälungskampagne. Zur besseren Prüfung wollten wir den Hengsten nach Ankunft von den Stellen noch eine 3. Injektion machen in der Dosis von 3—3,5 g.

Nachdruck verboten.

Ueber den Einfluß von Jensen-Sarkom auf die infektiöse Rattenanämie und ihre Erreger.

[Aus dem Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten zu Hamburg. Direktor: Obermedizinalrat Prof. Dr. Nocht. (Bakteriologische Abteilung: Vorsteher Prof. Dr. M. Mayer).]

Von Dr. W. Kikuth.

Nach Entmilzung erkrankten Ratten an einer infektiösen, von Lauda ausführlich beschriebenen perniziösen Anämie. M. Mayer, Borchardt und Kikuth wiesen nach, daß die Anämie durch Aktivierung eines latenten, von M. Mayer entdeckten Erregers, der *Bartonella muris* (M. Mayer 1921) zustande kommt.

Wenige Tage nach der Entmilzung, meistens schon am 4. oder 5., werden die Ratten krank, und es treten in den roten Blutkörperchen nach Giemsa leuchtend rot gefärbte bakterien-ähnliche, hantel- und kokkenförmige Einschlüsse auf, die sich schnell vermehren. Mit der Zunahme der Einschlüsse werden die Ratten mehr oder weniger hochgradig anaemisch und ein Teil der Tiere geht an den Folgen der Anaemie oft innerhalb der ersten 14 Tage zugrunde.

Hirschfeld und Tinozzi machten bei ihren Tumorstudien an Ratten die interessante Beobachtung, daß mit Tumoren implantierte Ratten die Entmilzung viel besser vertragen als Normaltiere. Nach ihren Angaben tritt bei Tumorratten nach Milzexstirpation die infektiöse Anämie viel seltener in Erscheinung und verläuft durchschnittlich leichter. Der Prozentsatz der Tumorratten, die der Infektion erliegen ist nach ihren Untersuchungen viel geringer, ein umso auffälligerer Befund, da die Tumorratten schon eine tödliche Krankheit, nämlich die Geschwulst mit sich herumtragen, die die Tiere ganz allgemein schwer schädigt und insbesondere eine Anämie mit neutrophiler Leukozytose hervorruft. Man hätte durch die Entmilzung eher eine ungünstige Beeinflussung der bereits vorhandenen Anämie und eine besonders schwere Blut-schädigung erwartet, jedoch das Gegenteil war der Fall. Bei den Normaltieren betrug die Sterblichkeitsziffer 70 Proz. innerhalb eines Monats nach der Operation, bei den Tumorratten nur 53,9 Proz. Der Tumor schützte also die Tiere bis zu einem gewissen Grade vor den schädlichen Folgen der Milzexstirpation.

Hirschfeld und Tinozzi glaubten, ohne Beweise hierfür zu geben, daß die Tumoren selbst schützende Substanzen gegen einen Ausbruch der Anämie erzeugen, oder aber, daß der reticulo- endotheliale Apparat durch die Anwesenheit der Geschwulst in einen Reizzustand versetzt, eher imstande ist, die fehlende Schutzwirkung der Milz zu paralisieren.

Leider erheben die beiden Autoren ihre Befunde nur auf Grund der durchschnittlichen Lebensdauer ihrer Versuchstiere und teilen nichts über das Vorhandensein und die Zunahme des der Anämie zugrunde liegenden Erregers, der *Bartonella muris*, mit. Wie Mayer, Borchardt und Kikuth aber zeigen konnten, ist die Schwere der Anämie von der Zunahme der Parasiten und dem wachsenden Befallenwerden zahlreicher Blutkörperchen abhängig. Abortive Erkrankungen mit spärlichen Bartonellen im Blut und fehlender hochgradiger Anämie können leicht übersehen werden.

Es lag uns nun daran, die Befunde von Hirschfeld und Tinozzi nach-zuprüfen und festzustellen, ob tatsächlich Tumoren irgend einen Einfluß auf

die Entwicklung und Vermehrung der Rattenbartonellen ausüben und als Erklärung für die verlängerte Lebensdauer der Tumorratten herangezogen werden können.

Zu diesem Zwecke wurden 9 Ratten mit Jensensarkom geimpft¹⁾ und bei verschiedener Größe der Tumoren (klein, mittelgroß und groß) entmilzt. Fortlaufend wurden täglich Blutaussstriche gemacht, um den Verlauf der auftretenden Anämie, Entwicklung und Zunahme der Parasiten genau zu verfolgen. Zu gleicher Zeit wurden 9 Normalratten entmilzt, die zur Kontrolle dienen sollten. Aus der beigefügten Tabelle I geht hervor, daß alle Tumorratten ohne Ausnahme an der Bartonellenanämie erkrankten.

Ta-

Größe der Tumors zur Zeit der Operation	erbsen- groß	erbsen- groß	erbsen- groß	hasel- nuß- groß	hasel- nuß- groß	kirsch- groß	wal- nuß- groß	größer als Wal- nuß
Tage nach der Milzexstirpation	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
2	0	0	0	0	0	0	0	0
3	+	+	+	+	+	+w	0	+
4	+++	+++	+++	+++	+++	++	0	++
5	++++	++++	++++	++++	++++	+w	0	+++
6	++	tot	tot	—	—	0	0	+++
7	0	++++	++++	+w	tot	—	0	++++
8	—			0		0	+	++
9	—			—		0	++	—
10	—			0		0	++	tot
11	—			—		0	+++	
12	—			—		tot	+w	
13	—			—		0	—	
14	—			—			0	

Tabelle I. Von den Tumorratten starben an der Anämie oder ihren unmittelbaren Folgen in den ersten 14 Tagen nach der Milzexstirpation zwei am 6. Tage, eine am 7., eine am 10. und eine am 12. Tage. Von den Kontrolltieren starben ebenfalls 5 in den ersten 14 Tagen, und zwar zwei bereits am 4. Tage, eine am 5., eine am 7. und eine am 11. Tage nach der Operation. Ein gewisser Unterschied in der Lebensdauer zu gunsten der Tumorratten ist vorhanden, obgleich lange nicht so eindeutig wie in den Befunden von Hirschfeld und Tinozzi. Allerdings geben die Autoren an, daß Jensensarkom erst in 2. Linie einen günstigen Einfluß erkennen ließ, mit Flexner-Joblingschen Tumoren erzielten sie bessere Erfolge.

Ganz allgemein tritt die Infektion bei den Normalratten etwas früher auf und ihre Lebensdauer ist im Vergleich zu der der Tumorratten etwas verkürzt. Der Unterschied tritt noch deutlicher in Erscheinung, wenn man von den Tumorratten Ratte 1—3, die zwei Todesfälle aufzuweisen haben, nicht mitrechnet, denn diese Tiere wurden entmilzt zu einer Zeit, als der Tumor noch relativ klein war, also höchstwahrscheinlich noch keine Allgemeinwirkung auf den Organismus

1) Jensensarkom wurde uns von Herrn Dr. Zadik-Hamburg freundlicher Weise zur Verfügung gestellt.

ausüben konnte, denn es fehlte bei diesen Tieren das stets mit Wachstumszunahme der Tumoren vorhandene anämische Blutbild.

Was aber den klinischen Verlauf der Infektion betrifft, der von der Zunahme und Zahl der Bartonellen abhängig ist, so ist ein wesentlicher Unterschied im Vergleich zu den Kontrolltieren nicht festzustellen. Wir können starke und schwache Bartonelleninfektionen sowohl bei den Tumorratten wie bei den Kontrollratten feststellen.

Worauf kann man nun die verlängerte Lebensdauer und das etwas spätere Angehen der Infektion bei den Tumorratten zurückführen? Bereits in früheren Arbeiten konnten Mayer, Borchardt und Kikuth nachweisen, daß die

belle I.

größer als Walnuß	Kontrollen								
R 9	R 10	R 11	R 12	R 13	R 14	R 15	R 16	R 17	R 18
+w ++ +++	+ +++ ++++	+w + +++	+ ++ tot +++	+ + +++	+w + ++	+w + +++	+ ++ +++	+ ++ tot ++++	+ +++ ++++
++++ ++	tot	— +w		— 0	— 0	++ ++	++ ++		0 0
+		tot		0	0	+	0		0
+w — 0 0				0 0 0 0	0 0 0 0	+w 0 — tot 0	— 0 —		0 0 — —
0				0	0		—		—
0 0				0 0	0 0		— —		— —

Bartonellen, wenn auch nicht ausschließlich, so doch bis zu einem gewissen Grade die Normozyten bevorzugen und nur in geringem Maße die polychromatischen und kernhaltigen roten Blutkörperchen befallen. Diese Beobachtung konnte ich auch bei diesen Versuchsreihen bestätigen. Nun haben die Tumorratten, wie bereits oben erwähnt wurde, ein ausgesprochen anämisches, mit einer großen Anzahl jugendlicher Formen überschwemmtes Blutbild und eine stets nachweisbare Leukozytose. Das gesamte hämopoetische System ist in einen Zustand höchster Reizwirkung versetzt. Sollte nicht gerade dieser Reizzustand des hämopoetischen Systems für das schlechtere Angehen der Infektion und die durchschnittlich etwas längere Lebensdauer der Tumorratten verantwortlich zu machen sein?

Aus diesem Grunde versuchte ich bei vorher künstlich anämisch gemachten Ratten, den Einfluß der Anämie auf den Verlauf der durch Milzextirpation auslösbaren Bartonelleninfektion zu studieren. Es wurden 9 Ratten teils mit Toluyldiamin, teils mit Phenylhydrazin vorbehandelt. Bei den mit Phenylhydrazin vorbehandelten Tieren entwickelte sich eine hochgradige Anämie mit Ueberwiegen der polychromatischen und kernhaltigen roten Blutkörperchen. Die Tiere waren matt, fraßen wenig und machten ganz allgemein einen sehr

kranken Eindruck. Im Gegensatz hierzu war die Anaemie der Toluylendiamintiere nur geringfügig. Lauda und Marcus konnten bei einigen so vorbehandelten Tieren das Auftreten einzelner Bartonellen beobachten. In diesem anämischen und kranken Zustand wurden die Ratten entmilzt. Die Operation wurde von allen gut vertragen. Der Verlauf der Bartonelleninfektion ist aus Tabelle II zu ersehen.

Tabelle II.

Tage nach der Milzexstirpation	R 19	R 20	R 21	R 22	R 23	R 24	R 25	R 26	R 27
2	0	0	+	0	0	0	0	+	+
3	+w	+w	++	—	—	—	—	++	++
4	++	+++	+++	0	0	0	+	+++	+
5	+++	+++	++	+w	+	+w	+	+	+
6	++++	++++	+	+w	++	+	+	+	+w
7	+++	+++	+w	+	+++	+	++	+w	0
8	0	0	0	+	++++	+	+++	0	0
10	—	0	tot	+	++++	+w	+++	0	0
11	tot	0		+	0	+	++++	0	0
12		0		0	0	0	0	0	0
15		0		0	0	0	0	0	0
17		—		0	0	0	0	0	0

Ratte 19, 20, 21 erhielten an 2 aufeinanderfolgenden Tagen 1 ccm 1proz. Toluylendiaminlösung subkutan; Ratte 22, 23, 24, 25 erhielten an 2 aufeinanderfolgenden Tagen 0,5 ccm 1proz. Phenylhydrazinlösung subkutan; Ratte 26, 27 erhielten 1mal 0,5 ccm 1proz. Phenylhydrazinlösung subkutan.

Während bei den Tumorratten und bei den Normalratten 55 Proz. der Tiere in den ersten 14 Tagen nach der Operation starben, betrug bei den vorher anämisch gemachten Tieren die Sterblichkeitsziffer nur 22 Proz. Umso auffälliger ist das Resultat, wenn man in Betracht zieht, daß die beiden Todesfälle zu den mit Toluylendiamin behandelten Tieren gehörten, die zur Zeit der Milzexstirpation eine nur geringgradige Anämie aufzuweisen hatten. Von den hochgradig anämischen und kranken Phenylhydrazintieren blieben alle am Leben und zeigten im Durchschnitt einen viel milderen Verlauf der Bartonelleninfektion.

Es galt nun noch die Frage zu beantworten, ob die von mir verwandten chemischen Mittel irgend einen chemotherapeutischen Effekt auf die Bartonellen hatten. Zu diesem Zwecke wurden Ratten, deren Blut zahlreiche Bartonellen aufzuweisen hatte, mit Toluylendiamin und Phenylhydrazin behandelt. Der Erfolg war vollkommen negativ. Eine chemische Beeinflussung von Toluylendiamin und Phenylhydrazin auf die Bartonellen konnte nicht festgestellt werden.

Es bleibt also nur die Möglichkeit vorhanden, daß wie angenommen wurde, die durch Phenylhydrazin hervorgerufene sekundäre Anämie als die eigentliche Ursache für den günstigen Verlauf der Bartonelleninfektion angesehen werden muß. Es ist durchaus möglich, daß durch das Ueberwiegen der jugendlichen Formen der roten Blutkörperchen der Boden für die Infektionsmöglichkeit der Bartonellen in ungünstiger Weise beeinflußt wird. Wenn das in der Tat so ist, dann findet man auch für den normalen Verlauf der ausheilenden Fälle von Bartonelleninfektion, bei dem es mit zunehmender Regeneration des Blutes zum völligen Verschwinden der Bartonellen kommen kann, ebenfalls eine Erklärung. Denn die Rezidive treten erst dann wieder in Er-

scheinung, wenn die jugendlichen Erythrozyten an Zahl zurückgehen und die Normozyten in überwiegender Mehrzahl vorhanden sind.

Zusammenfassung.

Implantierte Jensesensarkome sind nicht imstande, das Auftreten der Bartonellen-Infektion nach Milzexstirpation bei Ratten zu verhindern und schützende Substanzen gegen einen Ausbruch der infektiösen Rattenanämie zu erzeugen. Mit Jensesensarkom implantierte Ratten erkrankten dagegen an einer sekundären Anämie mit zahlreichen polychromatischen und jugendlichen Erythrozyten. Diese Blutregeneration und nicht das Jensesensarkom ist die Ursache für den milderen Verlauf der infektiösen Rattenanämie. Beweisend für die hemmende Wirkung der Blutregeneration auf den Verlauf der Bartonellainfektion bei vorher mit Phenylhydrazin und Toluylendiamin vorbehandelten hochgradig anämischen Ratten.

Literatur.

Hirschfeld und Tinozzi, Ztschr. f. Krebsforsch. Bd. 26. 1928. S. 304. — Lauda, Virch. Arch. Bd. 258. 1925. — Ders. u. Marcus, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 107. 1928. S. 104. — Mayer, M. Arch. f. Schiffs- u. Trop.-Hyg. 1921. — Ders., Borchardt u. Kikuth, Arch. f. Schiffs- u. Trop.-Hyg. Bd. 31. 1927. Beih. 4.

Nachdruck verboten.

Ueber eine neue Art von *Hepaticola*, *Hepaticola muris* n. sp. und deren Bedeutung für die Epithelwucherung.

[Aus dem patholog. Institut der Kaiserl. Universität zu Tokyo
(Vorstand: Prof. Dr. med. M. Nagayo).]

Von Dr. med. **Yoshiaki Uyeyama.**

Mit 2 Tafeln.

Während meiner Untersuchung über die Stoffwechselfathologie, mit der ich seit einigen Jahren beschäftigt bin, fand ich zufällig im Vormagen von weißen Ratten eine Art Fadenwurm, welcher eine hochgradige Epithelwucherung verursachte. Ein vorläufiger Bericht darüber ist schon im April 1926 auf dem Kongreß der Japan. patholog. Gesellschaft erfolgt. Da meine weitere Untersuchung über diesen Parasiten ergeben hat, daß es sich um eine neue Art Fadenwurm, *Hepaticola muris* n. sp., handelt, so soll hier eine genauere Mitteilung gemacht werden.

Zuerst habe ich den Parasiten in Schnittpräparaten eines Rattenmagens entdeckt. Dabei war eine genaue zoologische Beobachtung natürlich nicht ausführbar. Später hatte ich Gelegenheit, den ganzen Parasiten zu untersuchen, indem ich den Parasiten mit dem umgebenden Magengewebe in Laktophenilgemisch einlegte und dann zwischen 2 Objektgläsern mikroskopierte. Diese Untersuchungsmethode wählte ich absichtlich, um damit den in der Schleimhaut gewunden liegenden Parasitenkörper möglichst nicht zu verletzen. Bei dieser Methode war der innere Bau der Parasiten ziemlich gut zu erforschen. Nachher wurde mir freundlicherweise von Herrn J. Asada ein ganzer freige-

legter Parasit überlassen, welcher von der Magenschleinhaut einer Hausratte stammte. An diesem Präparat konnte ich wertvolle Untersuchungen über den inneren Bau des Parasiten anstellen, wofür ich Herrn Asada meinen besten Dank hier ausspreche.

Im folgenden seien zuerst die morphologischen Eigenschaften des Muttertiers, und zwar des Weibchens erwähnt, da bei meinem Material kein Männchen gefunden wurde.

Weibchen: Die Körperlänge des Weibchens beträgt 50—60 mm. Das Kopfende ist zugespitzt und 0,0133 mm breit; der übrige Körper wird vom Kopfende über die Vulvagegend hinweg bis kurz nach der Körpermitte kaudalwärts allmählich breiter, so z. B. beträgt die Breite in der Mitte zwischen dem Kopfende und der Vulvagegend 0,1032, in der Höhe der Vulva etwa 0,1289, in der Mitte des Leibes 0,1398 mm und dahinter an der Stelle der maximalen Breite 0,1515 mm. Von der letzten Stelle ab bleibt die Körperbreite bis zur Schwanzgegend ungefähr dieselbe. Die Schwanzgegend ist wieder verschmälert und konisch, während das terminale Ende des Schwanzes eine Breite von 0,037 mm besitzt, also weit breiter als das Kopfende ist. Daraus ersieht man, daß das Würmchen in der vorderen Hälfte schlanker, dagegen in der hinteren dicker ist (Tafel I, Fig. 1). Direkt hinter dem Kopfende befindet sich ein Nervenring. Die Körperoberfläche ist im allgemeinen mit einer glatten, chitinösen Cuticula versehen und zeigt nur eine ganz feine, lineare Zeichnung. Am terminalen Ende des Kopfes befindet sich ein ganz kleiner, rundlicher Mund, in dessen Umgebung weder Verdickung noch Fortsatz, noch Lippen zu finden sind. Die Mundhöhle ist ganz kurz und klein und geht bald in den vorderen Oesophagus über, welcher 0,5452 mm lang und 0,0066 mm breit ist. An den vorderen Oesophagus schließt sich der hintere Oesophagus an, dessen Länge 7,6 mm beträgt. Die Wand des Oesophagus ist chitinös, und in der Wand des vorderen Oesophagus kann man eine Längsmuskellage finden. Der hintere Oesophagus verläuft durch den einreihigen Zellstrang und geht in der Höhe der Vulva in den Darmkanal über, wo der Zellstrang verschwindet. Die Form der einzelnen Zellen des erwähnten Zellstrangs ist länglich oval bis rundlich und protoplasmareich; ihre Anzahl ist bei den von mir untersuchten Fällen konstant und beträgt 26 (Tafel I, Fig. 3). Der Darmkanal, welcher einen einfachen Schlauch darstellt, zeigt am Anfangsteil eine deutliche herzförmige Ausbuchtung. Er läuft durch die Körperhöhle, zuerst neben dem Uterus, dann neben dem Ovarium nach hinten und gelangt bis zur Schwanzgegend, indem er teilweise den Uterus und das Ovarium umwickelt. Er ist aber kurz vor dem Leibesende, und zwar am Teil hinter dem Ovarium, bedeutend schmaler und bildet schließlich den Enddarm, welcher am hinteren Ende des Wurmes in den rundlichen After ausmündet. In der Wand dieses engen Enddarmes findet sich eine Längsmuskelschicht (Tafel I, Fig. 3, 4, 5). Die Geschlechtsöffnung liegt etwa 8,2 mm entfernt vom Kopfende und ist von papillär-hügel-förmiger Gestalt. Das Chitin der Körperoberfläche überzieht dieses lippenförmige Gebilde und setzt sich weiter in die Uteruswand fort. Die Scheide ist ganz undeutlich, so daß die Geschlechtsöffnung unmittelbar an den Uterus grenzt (Tafel I, Fig. 3). Der Uterus nimmt mehr als die vordere Hälfte des hinter der Vulva befindlichen Körperteils in Anspruch, während der übrig bleibende Teil vom Ovarium eingenommen wird. Der Uterus verästelt sich nicht, sondern ist einschläuchig und füllt mit dem Darmkanal zusammen die Hauptmasse der Leibeshöhle aus. Seine Länge beträgt ca. 30,4 mm. An vereinzelt Stellen erscheint der Uterus torsiert oder geknickt. Die Uterushöhle enthält oft eine ganze Menge Eier, deren Gehalt den Durchmesser des Uterus bedeutend beeinflusst. Am Anfangsabschnitt hat der Uterus die Breite von 0,0599 bis

0,0766 mm, aber er verstärkt sich bald im mittleren Teil, welcher die Hauptmasse des Uterus darstellt, von 0,099—0,1299 (durchschnittlich 0,1182 mm). Der hintere Teil des Uterus ist wieder schmal und 0,0833—0,0835 mm breit (Tafel I, Fig. 3, 4). Das Ovarium tritt mit seiner ganz schmalen Spitze ca. 3 mm vor dem Uterusende auf, wo es in Verbindung mit dem Uterus steht. Am Anfangsteil ist es schmal und hat eine Breite von 0,0266—0,0999 mm. Weiter verläuft es neben dem Uterus nach hinten und nimmt in Uebereinstimmung mit der Verjüngung desselben allmählich an Dicke zu. Mit dem Aufhören des Uterus erreicht das Ovarium seine maximale Breite und macht neben dem Darmkanal, wie schon erwähnt, die Hauptmasse der Körperhöhle aus. Das hinterste Ende des Ovariums ist spitzig und liegt ca. 0,23 mm vor dem hinteren Leibesende. Dieser Hauptanteil des Ovariums hat eine durchschnittliche Breite von 0,1282 mm und eine Länge von 24,63 mm (Taf. I, Fig. 4, 5). Aus folgender Tabelle ergeben sich die Maßverhältnisse der von mir beobachteten *H. muris* und der anderen Arten:

Tabelle I.

Arten	Ganze Länge	Breite d. Kopfes	Mittlere Breite d. Körperteils v. Kopf b. z. Vulva	Breite a. d. Vulva-gegend	Mittlere Breite d. Leibes	Breite d. Schwanzes	Distanz v. Kopf bis z. Vulva
<i>H. hepatica</i>	120—145 mm	0,0358	0,1459	0,2408	0,2924	0,625	6,25
<i>H. soricicola</i>	142—175	0,0215—0,0286	0,1314—0,1587	0,129—0,173	0,1720—0,1978	0,05—0,0525	7,85
<i>H. gastrica</i>	37,1	0,007—0,01	—	—	0,09 (Maximale Breite)	0,025	6,9
<i>H. muris</i> n. sp.	50—60	0,0133	0,1032	0,1299	0,1399	0,0366	8,20

Bemerkung: Mittlere Breite an der vorderen Körperhälfte von *H. Muris*: 0,0986 mm, an der hinteren Körperhälfte: 0,1515.

Nun soll vom Parasitenei die Rede sein. Als ich zum ersten Male in Schnittpräparaten der Magenwand die Parasiteneier fand, glaubte ich, daß es sich um die Eier von irgend einer Trichurina handelte. Aber bei genauerer Beobachtung wurde es mir klar, daß sie etwas größer als diejenigen von Trichurina und außerdem in der Struktur von den letzteren etwas verschieden sind. Die Eier sind zitronen- oder faßförmig, Länge 0,0635, Breite 0,0301. Die Eischale ist hellgelb und glatt; sie hat weder Spina noch Knoten, noch Ueberzieher und besteht aus einer verhältnismäßig dicken Schicht (0,0029 mm). Die Schale zeigt an der Oberfläche eine längs verlaufende feine, lineare Struktur. Am Längsschnitt läßt sie ebenfalls der Oberfläche parallel verlaufende Linien und merkwürdigerweise außerdem noch einen dicken, dunklen Streifen erkennen; ein charakteristisches Zeichen für diesen Parasiten, das bei den anderen *Hepaticola*-Arten nicht vorkommt. Im Querschnitt zeigt die Schale radiäre Streifen und eine charakteristische dunkle Linie. An den beiden Polen des Eis befindet sich je ein dicker Deckel, welcher farblos und durchsichtig erscheint und halbkugelig vorgetrieben ist. Infolgedessen sehen die Pole schmal rundlich und stark konvex aus. Der Höhendurchmesser des Deckels ist 0,0033 mm. Die Distanz von der Deckelspitze bis zur inneren Seite der Schale beträgt durchschnittlich 0,0063 mm. Der Inhalt des Eis ist farblos und besteht aus 2—4 Eizellen (Taf. I,

Fig. 2, 8). Die folgende Tabelle dient zum Vergleich des von mir gemessenen Eis mit denen anderer Sorten.

Tabelle II.

Arten	Länge	Breite	Maximal- u. Mini- mallänge	Maximal- u. Mini- malbreite	Dicke der Schale	Größe des Deckels		
						Durch- messer	Höhe	Distanz v. Gipfel b. z. Innenfläche der Schale
<i>H. hepatica</i>	0,055 mm	0,0308	0,0609— 0,0499	0,0332 0,0277	0,0036	0,0057	0,0025	0,0038
<i>H. soricicola</i>	0,072	0,0288	0,075 0,0637	0,0332 0,0277	—	—	0,0025	0,0063
<i>H. gastrica</i>	—	—	0,0725 0,07	0,03 0,0275	—	—	—	—
<i>H. muris</i> n. sp.	0,0635	0,0301	0,0673 — 0,0801	0,0313 0,289	0,0029	0,0077	0,0033	0,0063

Was die zoologische Stellung dieses Parasiten anbelangt, so muß er als eine neue Art von *Hepaticola* betrachtet werden, da er von den bekannten *Hepaticola*-Arten, d. h. von *H. hepatica* (Hall, 1916), *H. soricicola* n. sp. (Nishigori, 1924) und *H. gastrica* n. sp. (Baylis, 1926) zu unterscheiden ist. Ich möchte dieser neuen Art *Hepaticola* den Namen *Hepaticola muris* n. sp. geben. Die Unterscheidungsmerkmale dieser *Hepaticola* von den anderen sind folgende:

a) Muttertier: Der Körper von *H. muris* ist viel kürzer und dünner, und zwar um ca. $\frac{1}{2}$ — $\frac{1}{3}$ kleiner als *H. hepatica* und *soricicola*; dagegen ist er etwa 2mal größer als *H. gastrica*.

Die Entfernung vom Köpfchen bis zur Vulva ist dagegen bei *H. muris* länger als diejenige bei den anderen Sorten (8,2 mm bei *H. muris*, 6,25 mm bei *H. hepatica*, 7,85 mm bei *H. soricola* und 6,9 mm bei *H. gastrica*). Die Speiseröhre ist bei *H. muris* ebenfalls am längsten. Die Zahl der Zellkörper (26), die den Oesophagus umringen, ist bei *H. muris* und *H. hepatica* gleich, aber größer bei *H. soricicola* (40). Bei *H. hepatica* und *soricicola* liegt das hintere Ende des Oesophagus einige Millimeter vor der Geschlechtsöffnung und geht mit dem Verschwinden des Zellstranges in den Darmkanal über. Bei *H. gastrica* liegt dasselbe unmittelbar vor der Geschlechtsöffnung und geht ohne bedeutende Demarkation in den Darm über. Bei *H. muris* aber liegt dasselbe gerade in der Höhe der Vulva und geht mit dem knotigen Fortsatz des letzten Zellkörpers in den beutelförmigen Anfangsteil des Darmkanals hinein. Außerdem mündet bei *H. gastrica* der After subterminal, nicht wie *H. muris* mit dem terminalen Anus.

b) Eier: Die Eier von *H. muris* (Taf. I, Fig. 2, 8) sind etwas länger als die von *H. hepatica* (Taf. I, Fig. 6), während in der Breite die beiden Eier ungefähr gleich sind. Dagegen sind die Eier von *H. muris* viel kürzer und etwas breiter als die von *H. soricicola* (Taf. I, Fig. 7) und *gastrica* (Taf. I, Fig. 9). Der Unterschied ist hier nicht so stark wie derjenige zwischen *H. muris* und *hepatica*. Der Eideckel von *H. muris* hat, im Vergleich mit demjenigen der anderen Arten, den größten Durchmesser und die bedeutendste Höhe. Die äußere Fläche des Deckels ist bei *H. muris* und *soricicola* halbkugelig, während diejenige bei *H. hepatica* gar nicht oder höchstens nur wenig vorspringt. Die Oberfläche der Schale bei *H. muris* und *H. soricicola* ist sehr

glatt und zeigt eine Spur von linearer Streifung, während sie bei *H. hepatica* durch schildkrötenförmige Streifen rau aussieht und bei *H. gastrica* ein feines Netzwerk zeigt. Eine andere Verschiedenheit an der Schale besteht in der Schichtung; die Schale von *H. muris* ist von einer einfachen Schicht gebildet, während sie bei den anderen Arten aus Doppelschichten besteht. Die oben erwähnte dunkle Linie der Eischale fehlt bei *H. hepatica*, *soricicola* und *gastrica*, während sie gerade bei *H. muris* sehr charakteristisch ist. In der Seitenansicht zeigt die Schale der *H. hepatica* eine radiäre Streifung und die bei *H. gastrica* eine granuläre Struktur, während die der *H. soricicola* und *H. muris* nur eine feine Längsstreifung erkennen läßt.

Als nebensächliche Merkmale zur Untersuchung seien hier noch einige biologische Eigenschaften der *Hepaticola*-Arten erwähnt. Bis heute habe ich *H. muris* n. sp. nur in weißen Ratten (*Epimys norvegicus* var. alb.) sowie in Hausratten (*Epimys norvegicus*) gefunden. Aber es ist mir noch nicht klar, ob *H. muris* auch bei anderen Ratten ansiedelbar ist. *H. hepatica* kann sich bei *Epimys norvegicus*, *Epimys alexandrinus* und *Lepus europaeus* ansiedeln, dagegen scheint *H. soricicola* nur in *Kyuso* (eine in Formosa einheimische Art von *Sorex*) ansiedelbar zu sein. Nach dem experimentellen Studium von Nishigori soll sich *H. hepatica* in weißen Ratten, Mäusen, Hunden, Kaninchen und Marmotts ansiedeln können, was bei *H. soricicola* nicht der Fall ist. *H. gastrica* wurde bis jetzt nur bei *Epimys norvegicus* und *rattus* entdeckt. Die Muttertiere der *H. hepatica* und *soricicola* sind nur in der Leber des Wirts zu finden, dagegen werden diejenigen der *H. muris* und *H. gastrica* nur im Magen, besonders in der Vormagenwand angetroffen.

Zuletzt sei von der pathologischen Bedeutung der *Hepaticola muris* n. sp. die Rede. Die Beobachtungen wurden dabei an weißen Ratten gemacht.

a) Makroskopischer Befund: Das Würmchen befindet sich in gewundenem Zustande in der Epithelschicht der Vormagenwand. Bei meinen 4 Fällen mit weißen Ratten waren nur je 1—3 Exemplare des Parasiten vorhanden. Dabei ist die Vormagenwand diffus etwas verdickt, vor allem zeigt ihre Epithelschicht eine ungleichmäßige Verdickung; infolgedessen sieht die Innenfläche der Magenwand oft ziemlich rau aus und ist oft mit kleieartigen Hornmassen versehen. Außerdem kommen an einigen, unbestimmten Stellen 1—3 miliär- bis linsengroße, grauweiße, knotenförmige Prominenzen, zuweilen daneben auch punktförmige Petechien und kleine Erosionen vor. Der marginale Rand zwischen dem Vor- und Drüsenmagen ist mehr oder weniger verdickt.

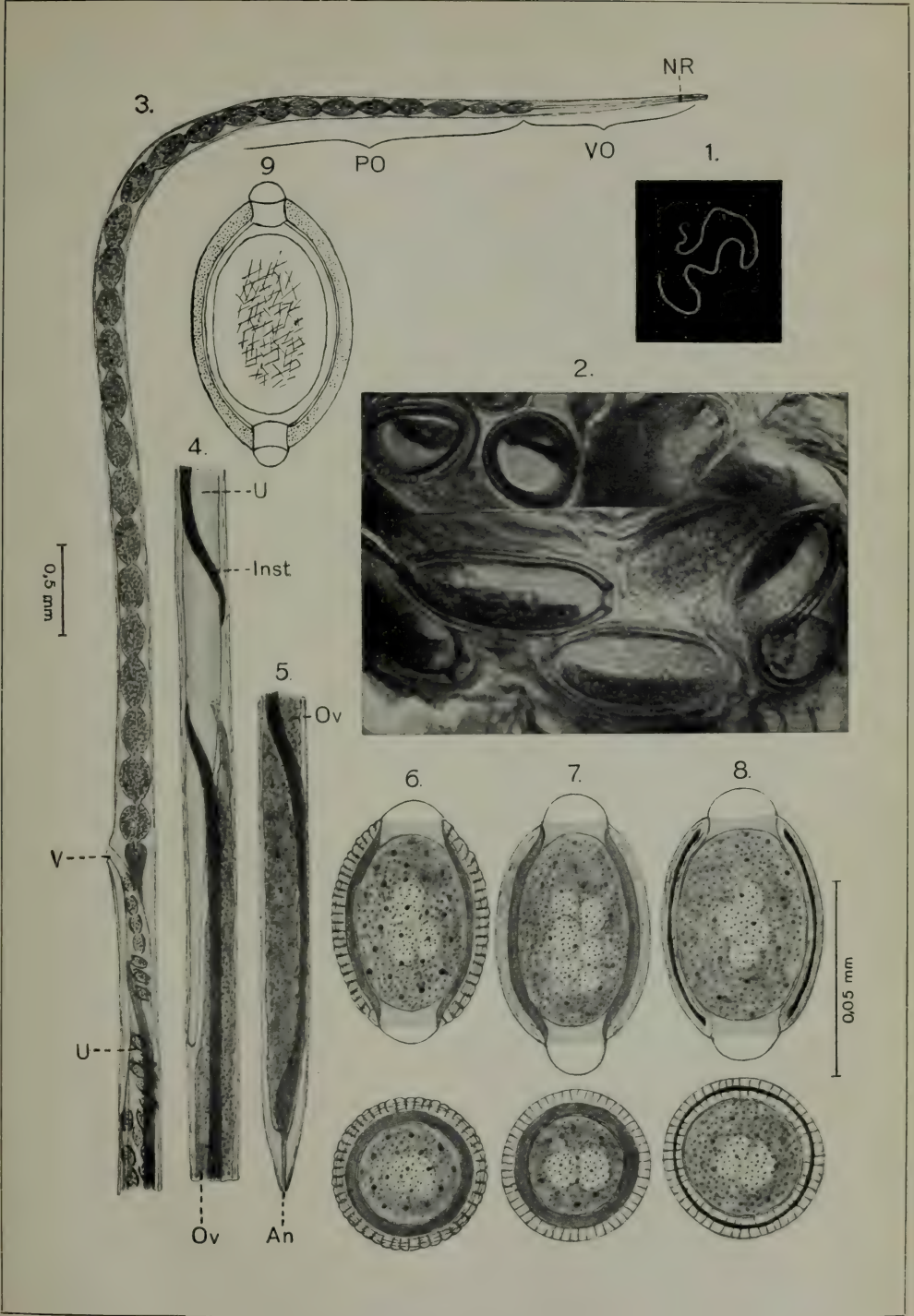
b) Mikroskopischer Befund: Die Epithelzellen der Vormagenschleimhaut zeigen in ihrer basalen Schicht eine Neigung zur Vermehrung. Die Hornschicht kann auch mehr oder weniger verdickt sein, und zwar besonders deutlich an den Stellen der hochgradigen Epithelwucherung. Die verdickte Hornschicht ist an ihrer Oberfläche teils stark abgeschilfert, teils nekrotisch. Außerdem kommt zuweilen in der Hornschicht eine Anhäufung mehrkerniger Leukozyten vor. An den Stellen der oben genannten knotigen Schleimhautprominenzen zeigen die Epithelzellen eine recht starke Proliferation und das Bild eines Epithelioms oder Papilloms. Die Epithelzellen können auch nach der Tiefe proliferieren und solide Zellzapfen bilden, welche die *Musc. mucosae* verdrängen (Taf. II, Fig. 3). Aber es kam noch nicht vor, daß die Zellzapfen die *Musc. mucosae* durchbrechen und in die Submucosa hineingelangen. Die Eier kommen in der verdickten Hornschicht entweder zerstreut oder gruppenweise vor; ein Teil davon liegt mit den abgefallenen Hornmassen in der Magenhöhle frei (Taf. II, Fig. 2). Die Hornschicht kann zuweilen in ihrer fast ganzen Schicht desquamiert sein, so daß Defekte in der betreffenden Epithelschicht

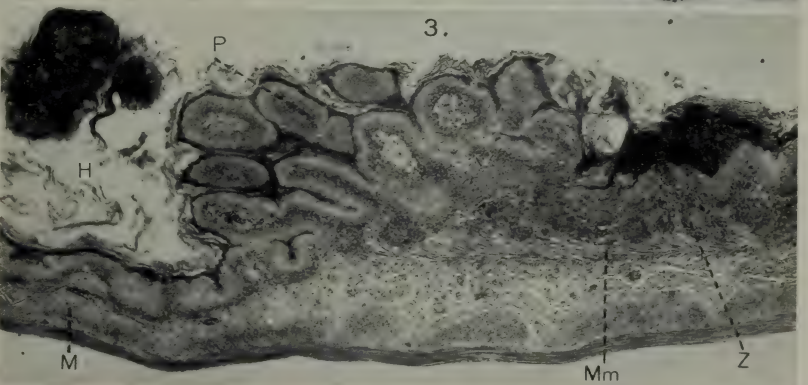
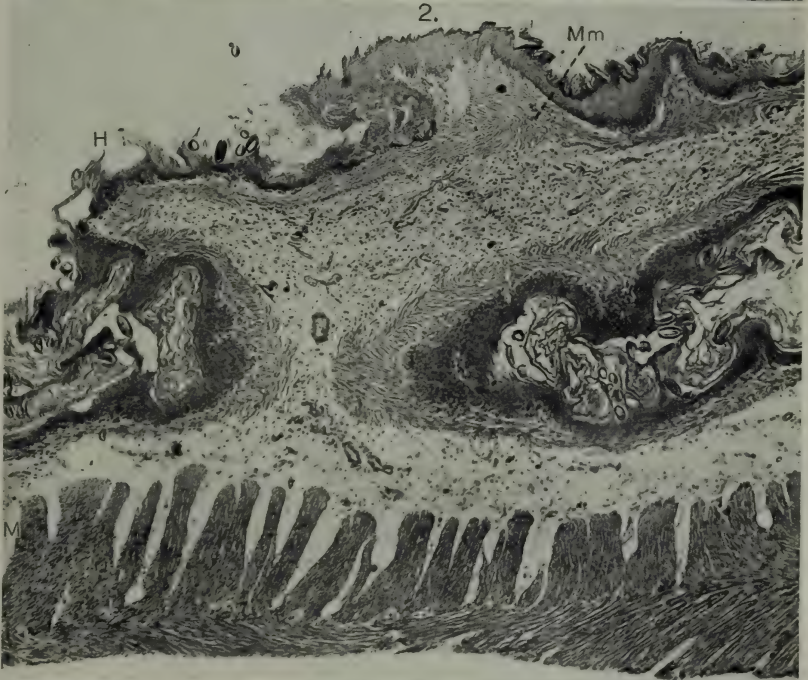
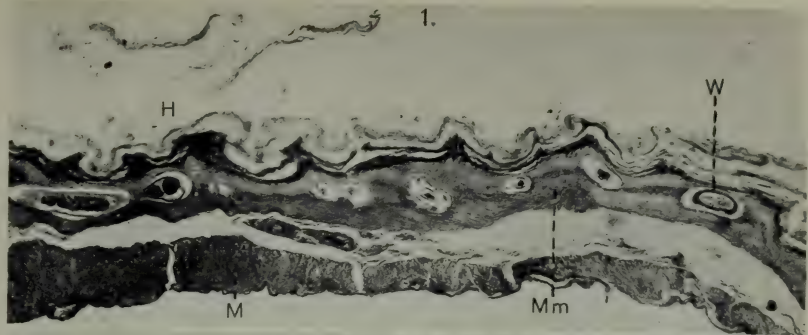
entstehen, in deren Umgebung polynukleäre, insbesondere eosinophile Leukozyten in großer Menge angehäuft sind.

In der Epithelschicht befinden sich stets tunnelähnliche Spalten, worin die Würmchen hausen. Diese Tunnelbildung kommt meistens in der Mitte der Epithelschicht zustande, viel weniger in einer noch tieferen Stelle, so in der Nähe der Tunica propria (Taf. II, Fig. 1). Nach Fibiger soll *Gongylonema* bestimmt zwischen der Hornschicht und der granulären Schicht hausen, dagegen bleibt unser Würmchen nie in einer so seichten Schicht sitzen. Die den Tunnel direkt angrenzende Epithelschicht ist einfach von spindelförmigen Epithelzellen umsäumt. In der Umgebung des Tunnels ist sonst keine reaktiv-entzündliche Veränderung nachweisbar. Innerhalb des Tunnels kann man neben dem etwaigen Würmerleib oft wenige, eiweißhaltige Detritusmassen antreffen. Sehr oft kann man in der Submucosa eine starke Dilatation und Ausfüllung von Kapillaren und kleinen Venen und zu gleicher Zeit bedeutende Verdickung der Arterienwand beobachten. Zuweilen kommt das Oedem der Submukosa zum Vorschein. Den verdickten Epithelschichten entsprechend kann auch in der Submukosa eine zellige Infiltration auftreten, welche zuweilen zu einer richtigen Phlegmone sich steigert. An der eigentlichen Muskelschicht und Serosa findet kaum eine Veränderung statt. Dagegen aber sind oft katarrhalische Veränderungen in der Schleimhaut des Drüsenmagens nachweisbar. Im Grunde sind aber die histologischen Veränderungen hauptsächlich in Vormagen lokalisiert, welche, kurz gesagt, in einer hochgradigen Epithelwucherung mit gesteigerter Verhornung und in einer subakuten reaktiven Entzündung bestehen. Diese Veränderungen stimmen ganz und gar mit denjenigen überein, die von Fibiger und Yokogawa in ihren Fällen von *Gongylonema neoplasticum* beschrieben worden sind. Nach ihren Forschungen soll der Grad dieser krankhaften Erscheinungen mit der Parasitenzahl und der Zeitdauer der Parasitenansiedelung ganz parallel gehen. In meinen Fällen aber war die Parasitenzahl nur gering, auch war der parasitische Zeitraum wahrscheinlich kurz (relativ junge Parasiten und Fehlen von Eiern im Stuhl). Dies war vielleicht der Grund dafür, daß die pathologischen Veränderungen bei meinen Fällen von relativ leichterem Grad, also nur die Veränderungen des Anfangsstadiums waren. Fibiger machte die Angabe: „die papillomatöse Epithelwucherung und Epitheliombildung können die Vorstadien zur Entwicklung maligner Geschwulst mit invasivem heterotopem Wachstum des Epithels sein“. Da nun die krankhaften Veränderungen durch *H. muris* im Grunde ganz analog mit denjenigen durch *Gongylonema* sind, so bin ich der Meinung, daß die pathologische Bedeutung der *H. muris* n. sp. derjenigen des *Gongylonema* ziemlich ähnlich sein kann.

Hier soll auch die Angabe von Mauel Beatti erwähnt werden, der im Magen von *Mus decumanus* spontanes Papillom, Epitheliom usw. beobachtet und dabei innerhalb der Hornschicht eine Art Fadenwurm und dessen Eier gefunden hat. In der Meinung, daß es *Trichuris* oder *Hepaticola* sei, hat er die beobachteten Epithelwucherungen für durch Parasiten hervorbrachte Geschwülste gehalten. Teutschlender hält neuerdings die von Beatti beobachteten Würmchen für *H. gastrica*. Ob sie aber *H. muris* sein können oder nicht, bleibt natürlich dahin gestellt.

Zum Schluß kann ich nicht umhin, Herrn Prof. Dr. med. M. Nagato und T. Ogata, die mir bei meiner Forschung immer mit lehrreicher Anregung und Leitung an die Hand gingen, sowie Herrn Prof. ph. Dr. S. Goto und Herrn J. Asada, die mir freundliche Anweisung und Hilfe zuteil werden ließen, meinen herzlichsten Dank auszusprechen.





Literaturverzeichnis.

1) Hall, M. C., Nematode parasites of Mammals of the orders Rodentia, Lagomorpha and Hyracoidea. Washington. 1916. — 2) Fibiger, J., Untersuchungen über eine Nematode (*Spiroptera* n. sp.) und deren Fähigkeit, papillomatöse und karzinomatöse Geschwulstbildungen im Magen der Ratte hervorzurufen. (Ztschr. f. Krebsforsch. Bd. 13. 1913.) — 3) Ders., Ueber eine durch Nematode (*Spiroptera* n. sp.) hervorgerufene papillomatöse und karzinomatöse Geschwulstbildung im Magen der Ratte. (Ztschr. f. Krebsforsch. Bd. 17. 1915. — 4) Beatti, M., Spontanumoren bei wilden Ratten. (Ztschr. f. Krebsforsch. Bd. 19. 1923. — 5) Ders., Weitere Untersuchungen über Spontanumoren bei wilden Ratten. Noch ein Fall von Epitheliom des Vormagens durch einen neuen Parasiten hervorgerufen. (Ztschr. f. Krebsforsch. Bd. 19. 1923. — 6) Baylis, H. A., A new species of *Hepaticola* (Nematoda) from the rat's stomach. (Journ. of tropic. Med. a. Hyg. Vol. 29. 1926. — 7) Teutschlender, Infektion, Parasitismus und Gewächsbildung. (Verhandl. d. Deutsch. patholog. Gesellsch. 22. Tag. 1927). — 8) Yokogawa, S., Ueber den durch eine neue Art des Gen. *Gongylonema* neoplasticum hervorgerufenen Epithelkrebs der Vormagen-, Oesophagus- und Mundschleimhaut bei Ratten. Gun. 18. J.-G. — 9) Nishigori, M., Ueber die Entwicklungsgeschichte von *Hepaticola hepatica*. (Ztschr. f. d. medzin. Verein, Formosa. 12. J.-G. Nr. 226). — 10) Ders., Ueber eine neue Art des Gen. *Hepaticola*. (Ztschr. f. d. medzin. Verein, Formosa. 13. J.-G. Nr. 236.

Erklärung der Tafelabbildungen.

Tafel I.

- Fig. 1. Ein Weibchen der *H. muris* n. sp. (natürliche Größe).
 Fig. 2. Die Eier dieses Würmchens (starke Vergrößerung).
 Fig. 3. Der vordere Leibestheil des Weibchens.
 Fig. 4. Der hintere Leibestheil desselben, wo der Eierstock mit dem Uterus in Verbindung steht.
 Fig. 5. Der Schwanzteil desselben.
 NR: Nervenring. VO: Vorderer Oesophagus. PO: Hinterer Oesophagus.
 V: Vulva. U: Uterus. Ov: Ovarium. Inst: Darmkanal. An: Anus.
 Fig. 6. Längs- (oben) und Querschnitt (unten) des Eis von *H. hepatica*.
 Fig. 7. „ „ von *H. soricicola*. (Nach Nishigori).
 Fig. 8. „ „ von *H. muris*.
 Fig. 9. Längsansicht des Eis von *H. gastrica*. (Nach Baylis, es zeigt die Oberfläche der Schale).

Tafel II.

- Fig. 1. Querschnitt der von *H. muris* infizierten Magenwand. (Schwache Vergrößerung.)
 W: Querschnitt des Wurmeibes in der Epithelschicht.
 H: Verdickte, desquamierende Hornschicht. m: Muscularis mucosae.
 M: Muskelschicht.
 Fig. 2. Derselbe mit zahlreichen Eiern in der verdickten Hornschicht. (Schwache Vergrößerung.)
 H, Mm M: Wie bei 1.
 Fig. 3. Das durch diesen Wurm hervorgerufene Epitheliom des Vormagens. (Mäßige Vergrößerung.)
 P: Papillomatöse Epithelwucherung. Z: neu sich bildende Zellzapfen.
 H, Mm, M: Wie bei 1.

Nachdruck verboten.

Vergleichende Untersuchungen über die Widerstandsfähigkeit verschiedener Leptospiren (*Spirochäten*) gegen äußere Einflüsse.

[Aus der med. Klinik der Kaiserl. Universität zu Tokyo
 (Direktor: Prof. R. Inada).]

Von **Saburo Anjow.**

Einleitung.

Untersuchungen an Wasserspirochäten wurden zuerst durch Wolbach und Binger angestellt, die in Gewässern in der Nähe von Boston eine durch

das Berkefeld-Filter passierende Spirochäten fanden und diese als *Spirochaeta biflexa* bezeichneten; später entdeckten dann Uhlenhuth und Zuelzer in Natur- und Leitungswasser eine morphologisch mit der *Leptospira icterohaemorrhagiae* fast identische *Spirochaeta pseudoicterogenes*. Auf diese Arbeiten folgten solche von Bach, Angerer, Hoffmann, Noguchi, Hindle, Zuelzer und Oba. Vor allem untersuchten Uhlenhuth und Zuelzer die *Sp. pseudoicterogenes* und die *L. icterohaemorrhagiae* serologisch, verglichen ihre Empfindlichkeit mit einander und fanden, daß auch die Wasser-Spirochaeta, welche bei Züchtung aus dem Leitungswasser einen ganz spezifischen Immunkörper darstellt, bei Gewöhnung an Tiereweiß (Serum) sich in eine solche umwandeln kann, welche sich immunologisch von der *L. icterohaemorrhagiae* durch nichts unterscheiden läßt. Ferner teilte Zuelzer mit, daß die an dieses Serum gewöhnte Wasser-Spirochaeta schließlich pathogen geworden sei und daß sie in Versuchen damit bei Meerschweinchen die typischen Symptome der Spirochaetosis icterohaemorrhagica erzeugen können. In letzter Zeit behaupteten Uhlenhuth und Grossmann bezüglich der Typenfrage der *Spirochaeta icterogenes*, daß auch die *L. icterohaemorrhagiae*, welche aus Erkrankten gezüchtet und für Meerschweinchen ebenso virulent ist, serologisch in mehrere Typen eingeteilt werden kann, und daß auch die aus Ratten gezüchteten und für Meerschweinchen virulenten *Leptospiren* zu mehreren Typen gehören können. Vergleichende Untersuchungen sind nicht nur an der *L. icterohaemorrhagiae*, sondern auch an den schon bekannten, morphologisch mit derselben identischen und für Meerschweinchen verschieden virulenten *Leptospiren*, d. h. dem Erreger des Gelbfiebers, Siebentagefiebers, der *Spirochaeta febrilis* u. a. sowie der Wasser-Spirochaeta eine immer interessante Aufgabe geworden. Damit hat sich Akira Shiga biologisch beschäftigt und beschreibt die Unterschiede zwischen der *L. icterohaemorrhagiae* und der Wasser-Spirochaeta, besonders in der oligodynamischen Wirkung der Metalle. Ich habe mit 2 *L. icterohaemorrhagiae*-Stämmen, 5 *L. hebdomadis*-Stämmen und 2 Wasser-spirochätenstämmen, außerdem 1 *L. icteroides*-Stamm und 1 *Sp. febrilis*-Stamm, also an 11 Stämmen, welche mir zur Verfügung standen, ihre Resistenz gegen die oligodynamischen Einwirkungen und einige andere äußeren Einflüsse vergleichend untersucht.

1. Die zu diesen Versuchen verwandten Leptospirenstämme.

Die zu unseren Versuchen verwandten *Leptospiren*stämme waren ganz dieselben, welche Dr. Shiozawa in seinem Aufsätze unter dem Namen „immunologische Beziehung der verschiedenen *Leptospiren*“ als Material verwendet hat. Ihre Herkunft und Virulenz hat er dort ausführlich beschrieben, weshalb hier der Einfachheit halber nur kurz erwähnt sei, daß 2 *L. icterohaemorrhagiae*-Stämme einige Jahre vorher aus dem Blute von Erkrankten gezüchtet worden waren, der Gelbfieberstamm aber im Herbst 1924 von Prof. Inada, dank der Gefälligkeit von Dr. Noguchi, aus Amerika mitgebracht worden war, während *L. akiyami* (Herbstfieber) Typus A und B (*L. hebdomadis*) im Herbst 1922 von Dr. Koschina, Shiozawa und Kitayama in Shizuoka gezüchtet worden waren, *L. hebdomadis* Typus B aber mehrere Jahre vorher in Kyushu. Die *Sp. febrilis* war uns im Herbst 1925 von Dr. Vervoot (Sumatra) gegeben worden, der Wasserstamm (Erlangen) von Akira Shiga aus Deutschland mitgebracht, im Institut für Infektionskrankheiten aufbewahrt und danach uns überlassen war, der Wasserstamm (Tokyo) aber im April 1925 von Dr. Shiozawa aus dem Leitungswasser von Tokyo gezüchtet worden war,

danach aber in unserem Institut in Kaninchenserum mit Agar (0,4 Proz.)-Ringer-Lösung oder Kaninchenserum-Ringer-Lösung weiter überimpft wurde.

Die zu unseren Untersuchungen verwandten Stämme, welche in Serum-agar-Ringer-Kulturen weiter überimpft wurden, wurden alle in 2—3 Passagen in die Ringersche Lösung verimpft und festgestellt, daß bei der normalen Kulturmethode keine Vermischung mit anderen Bakterien erfolgt war.

2. Oligodynamische Einwirkungen auf Leptospiren.

Ueber das Verhalten der *Leptospira* oder *Spirochaeta* gegenüber oligodynamischen Einwirkungen liegt nur wenig in der Literatur vor. Von Beger ist eine durch Kupferwirkung hervorgerufene Schwächung der *L. icterohaemorrhagiae* mitgeteilt worden, von Angerer eine starke Resistenz der Wasser-Spirochaeta gegen oligodynamische Einflüsse, und von Shiga, welcher die Wirkungen verschiedener Metalle (Kupfer, Blei, Eisen, Messing und Quecksilber) und kolloidaler Metalle (Kupfer, Silber, Blei, Selen und Gold) auf die *L. icterohaemorrhagiae* und die Wasser-Spirochaeta vergleichend untersucht hat, eine weit stärkere Resistenz der letzteren gegenüber der ersteren. Sonst sind keine anderen Arbeiten zu finden.

Untersuchungsmaterial und Versuchsmethode: Die Spirochäten wurden alle aus dem oben erwähnten Kaninchenserum plus Ringer-Lösung in 10 Proz. Kaninchenserum plus Leitungswasser verimpft, bei 30° C 5—7 Tage lang gezüchtet und nach Bestätigung eines guten Wachstums verwendet. Diese Kulturen zeigten jedes Mal in einem Gesichtsfeld bei der Wasser-Spirochaeta gute Vermehrung von über 50, zuweilen aber unzählbaren und bei den pathogenen Stämmen, wenn auch in geringerer Zahl, wenigstens eine solche von über 10 oder unzählbar vielen.

Von den Metallen wurden chemisch reine verwendet, und zwar Kupfer elektrolytisch hergestellt (Merck), Blei (Stanger), Eisen, von dem Institut für Physik und Chemie elektrolytisch hergestellt, Quecksilber, durch Destillation raffiniert, und der Bequemlichkeit halber Kupfer in Pulverform, Blei und Eisen in fein geschnittenen Stückchen.

1) Kultivierung in Metall-Kaninchenserum-Leitungswasser.

Von sterilem Leitungswasser plus Kaninchenserum (10 Proz.) wurden je 2,5 ccm in Röhrchen aufgenommen, wozu je 0,5—1,0 g sterilen Metalls hinzugesetzt wurde, und noch an demselben Tage fand die Mischung Verwendung. Zur Kontrolle diente die gleiche Menge von Serum plus Leitungswasser ohne Metalle. Auf die Mischung wurden je 3 Tropfen der erwähnten Leptospirenkulturlösung geträufelt und im Brutschrank bei 30° C aufbewahrt und mit dem Dunkelfeldapparat untersucht. Die Anzahl der Leptospiren in einem Gesichtsfeld wurde als Maßstab für die Entwicklung angesehen.

Versuchsergebnisse (Tab. I):

Eisen: Das Eisen wirkte unter den von mir untersuchten Metallen am schwächsten, so daß alle Stämme nicht auffallend beeinflusst wurden, ausgenommen *L. akiyami* Typus B Nr. 2, welche am 7. Tage einging.

Blei: Das Blei wirkte etwas stärker, als das Eisen. Von ihm wurden 2 *L. icterohaemorrhagiae*-Stämme, *L. icteroides* und *L. akiyami* B Nr. 2 am meisten beeinflusst, so daß die meisten am 7. Tage abstarben und nur wenige B fortlebten, aber schlecht beweglich und in der Entwicklung ganz gestört wurden. Bei den anderen Stämmen waren keine bedeutenden Veränderungen zu erkennen.

Metalle:	Eisen				Blei			
Tage:	3	7	14	20	3	7	14	20
Leptospiren								
L. icterohaem. Nr.4	++	++	++++	++++	+	+	—	—
L. icterohaem. Nr. 5	++	++++	++++	++++	+	—	—	—
L. icteroides	+	+++	++++	++	+	+	—	—
L. akiyami A Nr. 1	++++	++++	++++	++	++	++++	++++	++++
L. akiyami A Nr. 2	++++	++	++	+	++	++	++	++
L. akiyami B Nr. 1	+++	++	++	++	+++	+++	+++	++
L. akiyami B Nr. 2	±	—	—	—	(++)	(+)	—	—
L. hebdomadis	+	+++	+	+	++	++	++	++
Sp. febrilis	++	+++	+++	++	+++	++	++	++
Wasserleptosp. (E)	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
Wasserleptosp. (T)	++++	++++	++++	++++	+++	+++	+++	+++

++++ zeigt 50 bis unzählbare Leptospiren in 1 Gesichtsfeld.

+++ „ 10—50 Leptospiren in 1 Gesichtsfeld.

++ „ 1—10 Leptospiren in 1 Gesichtsfeld.

+ „ 1 Leptospire in einigen Gesichtsfeldern.

± „ ganz spärlich.

— „ keine Leptospiren.

Quecksilber: Das Quecksilber wirkte stark. In 3 Tagen erlitten die Leptospiren, mit Ausnahme von 2 Stämmen von *L. icterohaemorrhagiae* und *L. hebdomadis* (akiyami) B Nr. 2, welche schlecht beweglich wurden, wenig und behielten ihre Beweglichkeit bei, nach 7 Tagen aber verloren die pathogenen Stämme alle die letztere und gingen zugrunde, während 2 Wasserleptospiren nach 20 Tagen noch beweglich blieben.

Kupfer: Das Kupfer wirkte am stärksten, so daß die pathogenen Stämme alle ohne Ausnahme zugrunde gingen, während die Wasserleptospiren beide nach 20 Tagen noch unbeeinflusst blieben.

Faßt man die Ergebnisse dieser Versuche zusammen, so ergibt sich daraus, daß von den zu den letzteren verwendeten Metallen das Eisen am schwächsten wirkte, und die Stämme, mit Ausnahme von *L. akiyami* B, nach 20 Tagen noch fast nicht beeinflusst wurden. Das Blei wirkt etwas stärker als das Eisen, und auf verschiedene Stämme verschieden stark; es übte zwar Einfluß auf

Ta
Untersuchung auf den Einfluß von in die

Metalle:	Eisen				Blei			
Tage:	3	7	14	20	3	7	14	20
Leptospiren								
L. icterohaem. Nr. 4	++	+	+	+	+	+	+	+
L. icterohaem. Nr. 5	++	—	—	—	+++	++	+	—
L. icteroides	++	+	+	+	++	—	—	—
L. akiyami A Nr. 1	++++	++	+	+	++++	++++	++++	++
L. akiyami A Nr. 2	+	+	—	—	+++	—	—	—
L. akiyami B Nr. 1	+	—	—	—	++	+	+	—
L. akiyami B Nr. 2	+	—	—	—	++	+	—	—
L. hebdomadis	++	—	—	—	++	+++	+	—
Sp. febrilis	++	++	++	+	+	+	+	+
Wasserleptospira (E)	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Wasserleptospira (T)	++	++	+++	+++	+++	+++	++	++

I.
nchenserum, Leitungswasser.

Quecksilber				Kupfer				Kontrolle			
7	14	20		3	7	14	20	3	7	14	20
()	—	—	—	—	—	—	—	+++	+++	+++	+++
	—	—	—	±	—	—	—	++	++	++	++
	—	—	—	—	—	—	—	++	++	++	++
	—	—	—	—	—	—	—	++++	++++	++++	++++
	±	—	—	—	—	—	—	+++	+++	+++	+++
	—	—	—	—	—	—	—	++	++	++	++
	+	—	—	—	—	—	—	++	++	++	++
	—	—	—	—	—	—	—	++	++	++	++
	—	—	—	—	—	—	—	++	+++	+++	+++
++++	++++	++++	++++	++++	++++	+++	+++	++++	++++	++++	++++
++	++++	++	++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++

() zeigt träge Bewegung.
(()) „ keine Bewegung.
Okular 3 (Zeiss).
Objektiv W 120 (Zeiss für Dunkelfeldapparat).
Wasserleptospira (E) = für (Erlangen).
Wasserleptospira (T) = für (Tokyo).

L. icterohaemorrhagiae und L. icteroides aus, aber keinen auf die anderen Leptospiren, von denen nur 1 Stamm von L. akiyami B Nr. 2 ausnahmsweise nach 3 Tagen schlecht beweglich wurde. Die Wirkung von Quecksilber und Kupfer ließ die pathogenen Stämme und die Wasserleptospiren von einander dadurch deutlich unterscheiden, daß die ersteren in der Entwicklung ganz gestört wurden und alle nach 3—7 Tagen starben, während die letzteren so viel resistenter waren, daß sie nach 20 Tagen noch lebhaft beweglich blieben.

2) Einfluß der nach der Entwicklung der Leptospiren in den Nährboden hineingeworfenen Metalle.

Auf 2,5 ccm Serum plus Leitungswasser wurde jeder Stamm verimpft, welcher bei 30° C 5—7 Tage gezüchtet wurde, und in jedes Röhrchen wurde 0,5—1,0 g sterilen Metalls hineingetan, und dann untersucht.

Versuchsergebnisse: Tab. II).

belle II.
gut entwickelte Kultur gebrachten Metallen.

Quecksilber				Kupfer				Kontrolle			
3	7	14	20	3	7	14	20	3	7	14	20
+	—	—	—	((++))	((++))	—	—	+++	+++	+++	+++
—	—	—	—	((+))	—	—	—	++	++	++	++
±	—	—	—	+	—	—	—	++	+++	+++	++++
++	(+)	(+)	—	((+))	—	—	—	+++	+++	+++	+++
+	—	—	—	((+))	—	—	—	++	++	++	++
±	—	—	—	((+))	—	—	—	++	++	+++	+++
(+)	—	—	—	—	—	—	—	++	++	++	+++
+	—	—	—	((+))	—	—	—	+++	++	++	++
—	—	—	—	((+))	((+))	—	—	++	++	++	+++
++++	++++	++	++	++++	++++	+++	+++	++++	++++	+++	+++
++	++	++	++	++++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++

Die Einflüsse in dieser Versuchsreihe waren von den in der vorigen nicht sehr verschieden: Gegen Metalle, besonders gegen Quecksilber und Kupfer, waren die pathogenen *Leptospiren* weniger resistent, als die Wasser-*Leptospira*; auch gut gediehene *Leptospiren* wurden 3—7 Tage nach dem Hineinwerfen der Metalle schlecht beweglich und gingen allmählich zugrunde, aber die Wasser-*Leptospiren* blieben nach 20 Tagen noch gut beweglich, ohne großen Einfluß zu erleiden. Aus den Versuchsergebnissen geht hervor, daß die Wasser-*Leptospira* gegen die oligodynamische Wirkung von Quecksilber und Kupfer weit resistenter ist, als die *L. icterohaemorrhagiae*, ein Ergebnis, welches mit dem von Shiga übereinstimmt. Es wurde festgestellt, daß diese Differenz nicht nur zwischen beiden Stämmen, sondern auch zwischen anderen pathogenen, welche für Meerschweinchen verschieden virulent sind, und der Wasser-*Leptospira* besteht, und also diese eine für die pathogenen *Leptospiren* und die Wasser-*Leptospira* spezifische Eigenschaft ist. Gegen Eisen und Blei zeigt die Wasser-*Leptospira*, wie gegen Quecksilber und Kupfer, zwar eine weit stärkere Widerstandsfähigkeit, als die pathogenen, auf welche aber die ersteren Metalle schwächer wirken, als die letzteren. Besonders das Blei wirkt auf verschiedene Stämme verschieden stark. Vornehmlich nach dem Ergebnisse der ersteren

Kulturversuche in Kolloidmetal

Kolloid-Metalle:	Elektrokollargol (Heyden)											
Verdünnung:	1 : 250				1 : 100				Kontrolle			
Tage:	2	5	10	32	2	5	10	32	2	5	10	32
<i>Leptospiren</i>												
<i>L. icterohaem.</i> Nr. 4	++	++	+	—	+	—	—	—	++	+++	+++	++
<i>L. icteroh.</i> Nr. 5	++	++	++	++	+	—	—	—	++	+++	+++	++
<i>L. icteroides</i>	+	+	+	+	+	—	—	—	++	++	+++	++
<i>L. akiyami</i> A Nr. 1	++	+++	+++	+	+	—	—	—	+++	+++	+++	++
<i>L. akiy.</i> A Nr. 2	++	++	+++	+++	—	—	—	—	++	+++	+++	++
<i>L. akiy.</i> B Nr. 1	+	++	+++	++	—	—	—	—	++	+++	+++	++
<i>L. akiy.</i> B Nr. 2	+	++	++	++	±	—	—	—	++	++	+++	++
<i>L. hebdomadis</i>	++	++	+++	+++	±	++	++	++	+	++	+++	++
<i>Sp. febrilis</i>	+	+	—	—	—	—	—	—	+++	+++	++	++
Wasserleptosp. (E)	++	++	+	+	++	++	+	+	+++	+++	+++	++
Wasserlept. (T)	+++	++	+++	+++	++	++	++	++	+++	+++	+++	++

Versuchsreihe wird *L. icterohaemorrhagiae* von ihm beeinflusst, was mit dem Ergebnis von Shiga übereinstimmt, und auch der Gelbfieberstamm war ebenso schwach resistent, während *L. akiyami* überhaupt stark resistent war, nur *L. akiyami* B Nr. 2 aber nicht. Das Eisen übte auf verschiedene Stämme verschiedene Wirkung aus und ließ keine ihnen gemeinsame Spezifität erkennen.

3) Kultivierung in Serum-Leitungswasser mit kolloidalen Metallen.

Akira Shiga berichtet, daß die Wasser-Spirochaeta auch gegen Verdünnungen von kolloidalen Metallen, wie Kupfer, Silber, Blei, Selenium und Gold resistenter ist, als die *L. icterohaemorrhagiae*.

Verf. hat 2 kolloidale Metalle, nämlich Elektrokollargol Heyden (Silber 0,06 Proz.) und Elektroselenium Clin-Comar (Selenium 0,02 Proz.) verwendet. Von beiden kolloidalen Metallen in Verdünnungen von 1 : 500, 1 : 100 und 1 : 250

mit sterilem Leitungswasser, Kaninchenserum 10 Proz. zugesetzt, wurden 2,5 ccm in Röhrchen aufgefangen, in welche jeder Stamm überimpft wurde, um den Entwicklungszustand zu untersuchen.

Versuchsergebnisse: (Tab. III).

Elektrokollargol ließ in einer Verdünnung von 1:250 auch bei 30tägiger Beobachtung im ganzen fast keinen Einfluß auf die pathogenen Leptospiren und die Wasser-Leptospira bis auf Gelbfieberstamm, *L. icterohaemorrhagiae* Nr. 4 und *L. febrilis* erkennen, welche 3 Stämme schwächere Resistenz zeigten. In einer Verdünnung von 1:100 zeigte sich bei den Leptospiren überhaupt eine Hemmung der Entwicklung, bei dem Siebentagefieberstamme aber ebenso starke Widerstandsfähigkeit, wie bei der Wasser-Leptospira. In einer Verdünnung von 1:50 wurden die pathogenen Leptospiren und die Wasser-Leptospira ohne Unterschied in der Entwicklung gestört und starben nach 2 Tagen.

Elektroselenium wirkte in einer Verdünnung von 1:250 auf 3 Stämme, *L. akiyami* A Nr. 1, B Nr. 2, ebenso wenig schädigend, wie auf die Wasser-Spirochaeta, aber in einer Verdünnung von 1:100 fand man in der Resistenz einen so ausgesprochenen Unterschied zwischen den pathogenen Leptospiren

II.
, Leitungswasser.

Elektroselenium (Clin-Comar)										
1: 250			1: 100				Kontrolle			
11	21	28	4	11	21	28	4	11	21	28
—	—	—	—	—	—	—	+++	+++	++	++
—	—	—	—	—	—	—	++	+++	+++	++
—	—	—	—	—	—	—	++	++	++	++
+	±	—	—	—	—	—	+++	+++	++++	+++
—	—	—	—	—	—	—	++	+++	++	++
+	+	+	—	—	—	—	++	+++	+++	++
+	+	±	+	—	—	—	+++	+++	+++	++
—	—	—	—	—	—	—	++	+++	+++	++
+	—	—	—	—	—	—	++	++	++	++
+++	++++	+++	++++	+++	+++	+++	+++	+++	++++	+++
+++	+++	+++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++

und der Wasser-Leptospira, daß die ersteren alle nach 4 Tagen starben, die letztere aber nach 24 Tagen noch gut beweglich blieb: Kolloidales Silber und Selenium zeigten fast dieselbe Wirkung, wie die Metalle. Gegen Elektrokollargol waren die pathogenen Leptospiren, mit Ausnahme von einem Siebentagefieberstamme, im allgemeinen so schwach resistent, daß sie nach 4—5 Tagen abstarben, während der Wasserstamm so resistent war, daß er sich nach 28 Tagen noch lebhaft bewegte.

3. Einflüsse der Konzentrationen des Serums auf das Wachstum der Leptospiren.

Es ist eine bekannte Tatsache, daß zur Kultivierung der Leptospiren bei Verwendung des Serums als Tierereiweiß eine bestimmte Konzentration notwendig ist. Noguchi bemerkt, daß Serum in einer Verdünnung über 2 Proz.

die Entwicklung der *Leptospira icterohaemorrhagiae* befördert und in geringeren Konzentrationen kein Gedeihen erfolgt; Ohara setzt für die Ueberimpfung von *L. icterohaemorrhagiae* mit anderem Material, als mit Blut einen Zusatz von mehreren Tropfen frischen Blutes voraus, und Oba schreibt, daß die *L. icterohaemorrhagiae* unter aseptischen Bedingungen, wenn eine kleine Menge Blut zugesetzt wird, in sterilem Wasser über 50 Tage lang leben können, aber bei Verimpfung ohne Zusatz von Blut oder Blutplasma 1 Woche später sterben. Später teilten Manteufel und Shiga mit, daß, wie die Wasser-Spirochaeta, auch die *L. icterohaemorrhagiae* bei allmählicher Gewöhnung an das Leitungswasser in mehreren Passagen überimpft werden kann.

Versuchsmethode:

In jedes Röhrchen wurden 2,5 ccm Leitungswasser gegossen, 1 Std. täglich 3 Tage lang im Dampftopf sterilisiert und Kaninchenserum in verschiedenen Konzentrationen zugesetzt. Mit einer Konzentration von 10 Proz. beginnend, ging man allmählich zu einer geringeren herab. Bei Verimpfung brachte man 3 Tropfen des Nährmediums der vorhergehenden in das in der folgenden geringeren Konzentration.

Bei Ueberimpfung in reines Leitungswasser ohne Zusatz von Serum ist einige Mischung von Serum aus der vorhergehenden Kultur zu vermuten. Deshalb wurde Verimpfung in Leitungswasser ohne Zusatz von Serum in mehreren Passagen ausgeführt, und so der Entwicklungszustand untersucht. Versuchsergebnisse s. Tab. IV.

In Kulturen mit 2 Proz. Serum gediehen alle Stämme ebenso gut, wie in denen mit 5 Proz., aber bei 1 Proz. wuchsen *L. icterohaemorrhagiae* und der Gelbfieberstamm etwas schlechter, die anderen Leptospiren aber noch immer gut. In reinem Leitungswasser ohne Serum wurden die meisten pathogenen Leptospiren allmählich weniger lebhaft und zeigten keine Neigung zur Vermehrung; in der zweiten Passage war keine Vermehrung zu erkennen, während die Wasser-Leptospira in der 5. Passage noch lebhaft beweglich war und in der 6. Passage erst, als sich keine Spur von Serum mehr fand, schlecht beweglich wurde. Daraus geht hervor, daß in sterilem Wasser, wenn keine Mischung mit Serum erfolgte, die Leptospira früher oder später im Wachstum gehemmt wird, wogegen die Wasser-Leptospira längere Zeit lebensfähig ist, als die pathogenen Leptospiren.

Tabelle IV.

Kulturversuche in geringerer Konzentration des Serums.

Serum:	5 %	2 %	1 %	0	0	0	0	0	0
Tage:	6	7	5	4	7	3	4	4	8
Leptospiren									
<i>L. icterohaem.</i> Nr. 4	++++	++++	+	+	(+)	—	—		
<i>L. icterohaem.</i> Nr. 5	++	++++	++	+	—	—	—		
<i>L. icteroides</i>	++	++	+	—	—	—	—		
<i>L. akiyami</i> A Nr. 1	+++	++++	++	+	—	—	—		
<i>L. akiyami</i> A Nr. 2	++++	++++	++++	++	++	—	—		
<i>L. akiyami</i> B Nr. 1	+++	++	+++	++	(+)	—	—		
<i>L. akiyami</i> B Nr. 2	++++	++	++	++	—	—	—		
<i>L. hebdomadis</i>	+++	++++	+++	+	(+)	—	—		
<i>Sp. febrilis</i>	++++	++	+++	++	+	+	—		
Wasserleptospira (E)	+++	++++	++++	+++	+++	+++	++	++	(+)
Wasserleptospira (T)	++++	++++	++++	++++	++++	++	++	++	(+)

4. Einfluß verschiedener konzentrierter Kochsalzlösung auf das Wachstum der Leptospiren.

Uhlenhuth und Zuelzer beobachteten, daß auch im Meerwasser eine morphologisch mit der *L. icterohaemorrhagiae* identische *Leptospira* (*Sp. pseudoicterogenes salina*) vorkommt. Daß die *L. icterohaemorrhagiae* gegen konzentriertes Kochsalz sehr empfindlich ist, ist eine bekannte Tatsache und wird auch von beiden Autoren mitgeteilt. Uhlenhuth aber nimmt an, daß auch sie bei allmählicher Gewöhnung an das Kochsalz resistenter wird. Nach Tōyama stirbt sie in einer 5proz. Kochsalzlösung, bleibt aber in einer 1proz. kaum am Leben und wächst in 0,5 und weniger prozentigen ganz gut, während sie im Meerwasser zugrunde geht. Ido ist der Ansicht, daß bei Zusatz einer kleinen Menge von Blut keine großen Unterschiede zwischen dem Vorhandensein und Nichtvorhandensein des Kochsalzes zu erkennen sind. Aus den späteren Versuchen von Shiga ersehen wir, daß die Konzentration des Kochsalzes zwar bis auf 1,0 Proz. gesteigert werden kann, daß aber bei 1,2 Proz. die *L. icterohaemorrhagiae* zugrunde geht, aber auch bei 1,5 Proz. nur die Wasser-*Leptospira* gut gedeihen kann.

In bezug auf Einflüsse der niedrigen Konzentrationen kann nach Angerer die Kochsalzkonzentration ohne Einfluß bis auf 0,25 Proz. herabgesetzt werden, nach Oba aber leben die Leptospiren dadurch über 50 Tage, daß man zu sterilem Wasser nur eine kleine Menge von Blut (1 Proz.) ohne Kochsalz hinzusetzt. Auch Ohara beobachtete, daß bei Zusatz einer kleinen Menge von Blut die Züchtung ohne Zusatz von Kochsalz in destilliertem Wasser möglich ist. Ferner nehmen Manteufel und Shiga an, daß die Stämme, bei Gewöhnung durch mehrere Passagen in reines Leitungswasser verimpft werden können.

Versuchsmethode:

Bei der Prüfung der Kultur in höheren Konzentrationen begann man mit einer Kultur von 10 Proz. Serum plus 0,8proz. Kochsalzlösung, welche etwa 7 Tage lang bei 30° C gezüchtet, in ein Nährmedium von einer allmählich je um 0,2 Proz. erhöhten Konzentration und von 1,4 Proz. an in 3 Passagen in ein Röhrchen in derselben Konzentration verimpft wurden.

Versuchsergebnisse: (Tab V).

Tabelle V.

Kulturversuche in einem Nährmedium mit verschieden konzentriertem Kochsalzgehalt.

NaCl:	0,8 %	1,0 %	1,2 %	1,4 %		1,4 %		1,4 %		1,5 %		1,5 %		
Tage:	7	5	10	7	10	2	4	4	7	7	15	3	5	8
Leptospiren														
. icterohaem. Nr. 4	+++	++	++	—	—									
. icterohaem. Nr. 5	+++	+	±	—	—									
. icteroides	++	+	—	—										
. akiyami A Nr. 1	+++	++++	++	—	—									
. akiyami A Nr. 2	+++	+	+	—										
. akiyami B Nr. 1	+++	+++	++	++++	++++	++	++++	++++	++++	++	++	+	—	—
. akiyami B Nr. 2	++++	+++	++	—	—	—								
. hebdomadis	++	+++	(+)	—	—	—								
p. febrilis	++	++	+	—	—	—								
Wasserleptospira (E)	++++	+++	++++	+	+	+	+	+	—	—				
Wasserleptospira (T)	+++	+++	++	+	+	+	+	+	+	±	—	—		

Bei 1,0 Proz. gediehen die Stämme so gut, daß keine Schädigung zu erkennen war, bei 1,2 Proz. aber neigten sie zu etwas schlechtem Wachstum, zeigten jedoch keine ausgesprochene Verschiedenheit. Bei 1,4 Proz. wuchsen nur die *L. akiyami* B Nr. 1 und die Wasser-*Leptospira*, während die anderen pathogenen Leptospiren allmählich mehr im Wachstum gehemmt wurden. Bei 1,5 Proz. verloren auch die Wasser-*Leptospira* und *L. akiyami* B Nr. 1 nach und nach ihre Beweglichkeit und waren in der Entwicklung gehemmt. Bei über 1,2 Proz. gediehen die *L. icterohaemorrhagiae* nicht, dagegen war die Wasser-*Leptospira* resistenter; dieses Ergebnis stimmt fast mit dem von Shiga überein. Aus dem Umstande, daß die Stämme, wie wir in der vorigen Versuchsreihe sahen, durch bloßen Zusatz von 1,0proz. Serum zu sterilem Leitungswasser sich noch vermehren können, läßt sich auf Einflüsse der Kochsalzlösung in niedrigen Konzentrationen schließen, und darauf, daß die Gegenwart von Kochsalz hier keine große Rolle spielt.

5. Einflüsse der Galle und ihrer Salze auf Leptospiren.

Daß die *L. icterohaemorrhagiae* gegen Galle sehr schwache Resistenz zeigt, ist aus den Versuchen von Dietrich, Uhlenhuth und Fromme, Noguchi, Komatsu u. a. bekannt. Dietrich beobachtete, daß bei Zusatz von 10proz. Taurocholsauresnatron zur Kultur die *L. icterohaemorrhagiae* 1 Std. danach sich auflöste, und Uhlenhuth und Fromme zeigten, daß dem Blute mit der *L. icterohaemorrhagiae* zugesetzte Rindergalle in 1 Std. abtötete, und daß auch die Schweine- und Menschengalle nach 2 Std. dieselbe Wirkung entfalten konnte. Komatsu stellte fest, daß die *L. icterohaemorrhagiae* in einer taurocholsaurem Natriumlösung von 1:400 in 30 Min. zugrunde ging, und zwar auch bei der Kaninchengalle in einer Verdünnung von 1:100. Ferner teilte er mit, daß bei Prüfung auf die Entwicklungshemmung in einer 5,0 cem Serumwasserkultur mit Zusatz von taurocholsaurem Natron und Kaninchengalle (0,01) kein Wachstum erfolgte. Noguchi untersuchte die Wirkung der Rinder-, Kaninchen- und anderen Tiergallen und ihrer Salze und fand, daß auch die *L. icterohaemorrhagiae* in einer konzentrierten Lösung wenig resistent war, so daß sie in einer Verdünnung von 1:10 nach 5 Min. schon ihre Beweglichkeit verlor und abstarb, was auch bei dem 30fachen fast ebenso der Fall war; erst bei über 100 war kein Einfluß mehr zu bemerken.

Kulturversuche in Ga

Galle:	Rinder									Meerschweinchen		
Verdünnung:	1 : 100					Kontrolle				1 : 100		
Tag:	2	5	7	10	21	2	7	10	21	4	11	14
Leptospiren												
L. icteroh. Nr. 4	—	—	—	—	—	++	+++	+++	+++	—	—	—
L. icteroh. Nr. 5	—	—	—	—	—	++	+++	+++	+++	—	—	—
L. icteroides	—	—	—	—	—	+	+	+	+	—	—	—
L. akiyami A Nr.	++	+++	++++	+++	++	+++	++++	++++	++++	—	—	—
L. akiyami A Nr. 2	+	±	—	—	—	+	++++	++++	++++	—	—	—
L. akiyami B Nr. 1	—	—	—	—	—	+	+++	+++	+++	+	+	—
L. akiyami B Nr. 2	+++	+++	++++	+++	+	++	+++	+++	+++	+	—	—
L. hebdomadis	++	—	—	—	—	++	+++	+++	+++	—	—	—
Sp. febrilis	+++	+++	++++	+++	+	+	+++	+++	+++	+	—	—
Wasserleptosp. E	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+
Wasserleptosp. T)	++	++	+++	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+

Versuchsmethode:

Rinder-, Kaninchen-, Meerschweinchengalle und taurocholsaures Natrium wurden auf das 10- und das 30fache verdünnt und mit 1 Tropfen der Verdünnungen mit 1 Tropfen der Serum(10proz.)-Ringer-Kultur von Leptospira gemischt.

Versuchsergebnisse:

Fast ohne einen Unterschied bei jeder Galle und ohne einen großen bei jeder Leptospira verloren die Stämme, mit Ausnahme eines Falles, in 5—15 Min. fast ganz ihre Beweglichkeit und zeigten Degeneration. In 30 Min. gingen sie zugrunde oder lösten sich auf. Nur bei 1 Wasserstamm (Tokyo) fanden sich in einer Verdünnung jeder Galle von 1 : 30 nach 15 Min. noch wenige bewegliche Leptospiren, welche aber alle in 30 Min. degenerierten und abstarben. Gegen konzentrierte Galle und ihre Salze zeigten alle Leptospiren eine sehr schwache Widerstandsfähigkeit, in welcher sie fast keinen Unterschied untereinander erkennen ließen, von welcher Art sie auch sein mochten.

Versuche über die entwicklungshemmende Wirkung der Galle (Tab. VI).

Die vorige Versuchsreihe ergab, daß die Stämme gegen die konzentrierte Galle fast gleich schwach resistent waren. Um nun festzustellen, ob die verdünnte Galle auf das Wachstum der Stämme hemmend wirken kann und wie verschieden stark solche Wirkung zwischen den letzteren ist, wurde sie in einer Galle-Serum-Ringer-Lösungskultur untersucht. In einer Verdünnung jeder Galle von 1 : 50 zeigten die Leptospiren gar kein Wachstum. Deshalb verglichen wir ihren Entwicklungszustand in Galle (1,0proz.)-Serum-Ringer-Lösung mit einander.

Bei Rindergalle waren keine bestimmten Unterschiede zwischen der Wasser-Leptospira und der pathogenen L. zu finden, und nur die Wasser-Leptospira, L. akiyami A Nr. 1 und B Nr. 2 sowie L. febrilis waren etwas resistenter, als die anderen Stämme. In der Kaninchen- und Meerschweinchengallekultur waren die Wasser-Leptospiren beide gut gediehen, die pathogenen L. aber alle bis auf L. febrilis, welche etwas resistenter war, im Wachstum gehemmt.

Bei taurocholsaurem Natron wuchsen die Stämme in einer Konzentration von weniger als 1 : 1000 nicht und zeigten erst in höherer Verschiedenheit

belle VI.
Serum, Ringerlösung.

Kaninchen						Taurocholsaures Natrium					
1 : 100			Kontrolle			1 : 1500			Kontrolle		
4	11	21	4	11	21	4	9	21	4	6	21
—	—	—	++	+++	+++	—	—	—	+++	+++	+++
±	—	—	+++	+++	+++	—	—	—	++++	+++	+++
—	—	—	++	+++	++	—	—	—	+++	++	++
+	—	—	+++	+++	+++	++	++	+	+++	+++	+++
—	—	—	+++	++++	+++	+	—	—	+++	+++	++
—	—	—	+++	+++	+++	+	—	—	+++	+++	+++
±	—	—	+++	++++	+++	±	±	—	++	+++	+++
—	—	—	+++	++++	+++	—	—	—	+++	++++	+++
+	+	—	+++	+++	+++	++	+++	++	++++	+++	+++
++	++	+	+++	++++	+++	+++	++++	+++	++++	++++	++++
+++	++	+	+++	++++	+++	+++	+++	+	++++	++++	++++

in der Entwicklung. Am besten gediehen die Wasserleptospiren, denen dann *L. febrilis*, *L. akiyami* A Nr. 1 und B Nr. 1 folgten, wogegen die anderen pathogenen *L.* im Wachstum ganz gehemmt wurden. Alle diese Versuche ergaben, daß keine deutlichen Unterschiede zwischen den pathogenen und den Wasserleptospiren zu finden waren, die letzteren aber eine starke Resistenz aufwiesen, *L. icterohaemorrhagiae* und der Gelbfieberstamm waren dagegen am schwächsten resistent und in ihrer Entwicklung gehemmt.

6. Resistenz der Leptospiren gegen Saponin.

Noguchi hat gefunden, daß die *Leptospira* gegen Saponin stark resistent war, so daß sie auch in einer 10proz. Lösung gar nicht geschädigt wurde. Noguchi sieht diese Resistenz gegen Saponin als eine für sie spezifische Eigenschaft an, wodurch sie sich von den anderen Spirochäten und *Treponema* unterscheiden lassen. Auch Komatsu nimmt eine besondere Resistenz der *L. icterohaemorrhagiae* und *L. hebdomadis* gegen Saponin an und berichtet, daß die Stämme auch bei 10 Proz. noch gut beweglich blieben, ohne irgendwie beeinflußt zu werden. *Sp. pallida* wurde schon in einer Verdünnung von 1:600, die *Spirochaeta Duttoni* in solcher von 1:600—1:2000 in ihrer Bewegung aufgehalten. Dietrich aber ist der Ansicht, daß das Saponin die Leptospiren abtöten kann, wozu aber, wie er betont, eine viel höhere Konzentration der Lösung nötig ist, als die des taurocholsauren Natrons.

Ich mischte die mit einer 5,0proz. Saponinlösung in Ringer-Lösung plus Serum gezüchteten Leptospiren in gleicher Menge und untersuchte dieses Gemisch mit dem Dunkelfeldapparat, was ergab, daß die Stämme nach 5 Std. noch gut beweglich blieben, also keine Einflüsse bemerken ließen. Ich verwandte nun ein Nährmedium aus 10proz. Saponin und Serum (10proz.)-Leitungswasser, in welches ich jede *Leptospira* verimpfte, worauf ich sie auf ihre Entwicklung bei 30° C untersuchte und fand, daß die Leptospiren eben so gutes Wachstum zeigten, wie die Kontrolle ohne Saponin, und nach 3 Wochen noch gut gediehen, ohne geschädigt zu sein. Diese Versuchsergebnisse stimmen also mit denen von Noguchi und Komatsu überein. Die 11 zu unseren Untersuchungen verwendeten Stämme waren alle gegen Saponin so resistent, daß sie in ihrem Wachstum gar nicht gehemmt wurden, was eine von Noguchi angeführte Eigentümlichkeit der Leptospiren ist.

7. Resistenz der Leptospiren gegen Säuren.

Daß die Leptospiren gegen Säuren empfindlich und weniger resistent sind, ist eine altbekannte Tatsache. Nach Uhlenhuth und Fromme sollen die Leptospiren, wenn ein Tropfen der *L. icterohaemorrhagiae*-Kultur mit 1 Tropfen 0,1proz. Salzsäure gemischt ist, in 10—15 Min. ganz ihre Beweglichkeit verloren haben, seitdem nach und nach in Degeneration geraten und aufgelöst worden sein. Die Versuche von Toyama ergaben, daß die *L. icterohaemorrhagiae* in 0,02proz. Salz- und Schwefelsäure starben, in 0,002proz. gut gediehen, in 0,01proz. Essigsäure aber zugrunde gingen.

1. Salzsäure:

Zu Kaninchenserum-(10proz.)-Ringer-Lösungskultur der Leptospiren wurden Verdünnungen von reiner Salzsäure in gleicher Menge zugesetzt und mit dem Dunkelfeldapparat untersucht. Dabei fand sich, daß alle Leptospiren in einer 0,2proz. Lösung schon in 5 Min. ihre Beweglichkeit ganz verloren und zugleich zum Teil degenerierten oder sich auflösten und abstarben, in einer

0,1proz. nach 5 Min. aber selten, wenn auch nicht lebhaft, noch beweglich blieben, in 15 Min. aber ganz ihre Beweglichkeit verloren, degenerierten und allmählich zugrunde gingen. Unterschiede zwischen den Stämmen wurden hier nicht bemerkt.

2. Essigsäure:

Wie in den vorigen Versuchen, wurden hier der Kultur aller Leptospiren Verdünnungen reiner Essigsäure in gleicher Menge zugesetzt in einer 0,2proz. Lösung. Fast gleiches Verhalten fand sich, wie bei der Salzsäure; alle Leptospiren wurden nach 5 Min. unbeweglich und starben ab; in einer 0,1proz. fanden sich, mit Ausnahme eines Falles, ohne daß sich ein großer Unterschied zwischen ihnen zeigte, in 5 Min. noch einige sich nicht lebhaft bewegend, die in 15 Min. aber alle unbeweglich wurden und starben. Nur die Wasser-Leptospira (Tokyo) war relativ resistent, und nach 30 Min. noch lebhaft beweglich. Freilich fanden sich nur wenige davon, welche aber auch allmählich schlechter beweglich wurden und nach 1 Std. abstarben.

Die obigen Versuche ergaben, daß alle Leptospiren gegen Säure sehr schwach resistent waren, also dieselben Ergebnisse, wie in den von Toyama, Uhlenhuth und Fromme gemachten Versuchen mit der *L. icterohaemorrhagiae*. Besondere Unterschiede in der Resistenz zwischen allen Stämmen und zwischen den pathogenen und der Wasser-Leptospira waren nicht zu finden.

3. Einfluß der Temperaturen bei der Kultivierung.

Ueber die Züchtung der *L. icterohaemorrhagiae* schreibt Noguchi, daß 10—37° C die zur Züchtung geeigneten Temperaturen sind, worin auch die anderen Autoren übereinzustimmen scheinen.

Ich habe in der Kaninchenserum-(10proz.)-Ringer-Lösung das Verhalten der zur Züchtung aller Leptospiren, besonders der Wasserleptospiren, geeigneten Temperaturen vergleichend untersucht und gefunden, daß sich diese alle bei 35—37° C am raschesten, und zwar schon 3 Tage nach der Ueberimpfung, zu ziemlich vielen, in der Regel in einem Gesichtsfeld zu 20 bis unzählbar vielen vermehrt haben. Bei 25—26° C erfolgte die Vermehrung etwas später als bei 35—37° C, und zwar gewöhnlich nach 3 Tagen, in einem Gesichtsfeld nur 5—20, aber nach 1 Woche waren 20 bis unzählbar viele zu finden. Für eine langandauernde Züchtung und Aufbewahrung waren niedrigere Temperaturen von ungefähr 25—30° C geeignet, was mit den Ergebnissen der Untersuchungen von Noguchi, Komatsu u. a. mit den Kulturen der *L. icterohaemorrhagiae* übereinstimmt. In Kulturen bei den oben genannten Temperaturen gediehen die Wasserspirochäten weit besser und schneller, als die pathogenen Leptospiren. Wurden die Kulturen in einem gleich langen Zeitraume mit dem Dunkelfeldapparat untersucht, so fand sich, daß die Zahl der Leptospiren in einem Gesichtsfelde immer die der pathogenen weit übertraf, eine Tatsache, worauf Shiga bei Vergleichung der Wasserleptospiren und der *L. icterohaemorrhagiae* aufmerksam machte, und welche auch in unseren Kulturen zur Vergleichung der Wasser-Leptospira mit den anderen pathogenen Leptospiren ganz übereinstimmt.

Ueber die Züchtung bei höheren Temperaturen ist von Noguchi angegeben worden, daß sich die *L. icterohaemorrhagiae* bei 42° C nicht entwickelte, und auch Toyama gab an, daß sie relativ schwach resistent gegen höhere Temperatur war.

Aus unseren Kulturuntersuchungen bei 42° C hat sich ergeben, daß alle Leptospiren nicht nur keine Neigung zur Vermehrung zeigten, sondern beim

Stehen bei 42° C in 2 Tagen unbeweglich wurden, zugrunde gingen und nach 5 Tagen ganz verschwanden. In Kulturen bei 40°, wie bei 42° erfolgte nach 2 Tagen allmählich der Verlust der Beweglichkeit und nach 5 Tagen der Tod, d. h. in Kulturen bei höherer Temperatur waren keine Unterschiede zwischen den Leptospiren und bei über 40° C kein Wachstum zu finden.

9. Untersuchungen auf Symbiose der Leptospiren mit anderen Bakterien.

Es ist schon darauf hingewiesen worden, daß die *L. icterohaemorrhagiae* überhaupt in den Kulturen sterben, wenn andere Bakterien mit ihnen gemischt sind, aber die verschiedene Art und Menge der gemischten Bakterien scheint verschiedene Einflüsse zu erzeugen. Prof. Inada schreibt, daß die *Leptospira icterohaemorrhagiae* in den Kulturen bei Vermischung mit vielen Bakterien zugrunde gehen, aber bei der mit wenigen unbeschadet leben können. Ob a nimmt auf Grund seiner Untersuchungen über die Lebensdauer der *L. ictero-*, *haemorrhagiae* unter aseptischen Bedingungen an, daß die ersteren in nicht sterilem Wasser am 5. Tage (22° C) absterben, in sterilem Leitungswasser plus Blutplasma aber auch bei zufälliger Vermischung mit anderen Bakterien über 1 Monat leben können. Noguchi fand bei seinen eingehenden Untersuchungen über die Symbiose mit anderen Bakterien, daß nicht hämolytische Streptokokken, *Bac. faecalis alkaligenes* u. a., wenig Einfluß auf die *L. icterohaemorrhagiae* ausüben, ja, im Gegenteil das Wachstum derselben befördern können, während die Typhus-, Paratyphusbazillen usw. im allgemeinen auf das letztere entgegengesetzt wirken. Manteufel teilt mit, daß beim Zusammenleben auf *L. icterohaemorrhagiae* der *Bac. faecalis alkaligenes* Wachstum fördernd, *Bac. coli* aber entgegengesetzt wirkt. Später schrieb Shiga, daß die Untersuchungen über Symbiose mit grünen Algen, *Megatherium*, *Violaceus* und Wasservibrionen keine Unterschiede zwischen der *L. icterohaemorrhagiae* und der Wasser-*Leptospira* erkennen ließen.

Versuchsmethode:

Jede *Leptospira* wurde in Kaninchenserum-Ringer-Lösung 7 Tage lang bei 30° C gezüchtet, wobei nach gutem Wachstum 3 Tropfen der Bouillonkultur der Bakterien überimpft wurden. Das Gemisch wurde 18 Std. bei 37° C stehen

Ta
Symbiose mit

Bakterien:	Bac. coli communis				
Tage:	vor	1	2	8	15
Leptospiren					
<i>L. icterohaem.</i> Nr. 4	+++	(+)	—	—	—
<i>L. icterohaem.</i> Nr. 5	+++	(+)	(+)	—	—
<i>L. icteroides</i>	+++	(++)	(+)	—	—
<i>L. akiyami</i> A Nr. 1	+++	(+)	(+)	(+)	—
<i>L. akiyami</i> A Nr. 2	+++	(+)	—	—	—
<i>L. akiyami</i> B Nr. 1	+++	(+)	(+)	—	—
<i>L. akiyami</i> B Nr. 2	+++	(++)	(++)	—	—
<i>L. hebdomadis</i>	+++	(++)	(+)	—	—
<i>Sp. febrilis</i>	++++	(++)	(+)	((+))	—
Wasserleptospira (E)	++++	(+++)	+++	+++	+++
Wasserleptospira (T)	+++	(+++)	+++	+++	+++

gelassen, danach bei Zimmertemperatur (12—25° C) gehalten und mit dem Dunkelfeldapparat untersucht.

Versuchsergebnisse: 1) Untersuchungen auf die Symbiose mit *Bac. coli* (Tab. VII).

Zu diesen Untersuchungen wurden *Bac. coli communis*, *communior* und *haemolyticus* verwendet, die alle in Serum-Ringer-Lösung gutes Wachstum und bei 37° C nach 18 Std. in einem Gesichtsfeld eine unzählbare Vermehrung zeigten.

Symbiose mit *Bac. coli communis* und *communior*.

Nach Ueberimpfung des *Bac. coli* wurden die pathogenen Leptospiren mit der Vermehrung der Bakterien immer mehr beeinflußt, so daß sie nach 1 Tage wenig beweglich wurden und nur einige noch ihre Beweglichkeit behielten. Nach 3 Tagen wurden die meisten unbeweglich und nur wenige bewegten sich wenig lebhaft, während nach 7 Tagen alle zugrunde gingen. Die Wasserleptospiren dagegen zeigten fast keinen Einfluß, nur an einem Tage, wo *Bac. coli* am besten wuchs, schienen sie etwas weniger beweglich, gediehen aber nach 7—8 Tagen schlechten Wachstums wieder besser und gewannen ihre Beweglichkeit wieder. Nach 2 Wochen waren noch viele Wasserleptospiren beweglich.

Symbiose mit *Bac. coli haemolyticus*. Dieser Stamm war ein typischer *Bac. coli haemolyticus*, der aus dem Duodenum eines Gallensteinkranken gezüchtet worden war. Diese Versuche haben ergeben, daß alle Leptospiren ebenfalls beeinflußt wurden, so daß sie nach 1 Tage wenig beweglich waren und nach 3—5 Tagen abstarben, wobei keine Unterschiede zwischen den pathogenen und den Wasserleptospiren zu erkennen waren. — 2) Symbiose der Leptospiren mit *Streptococcus haemolyticus* (Tab. VIII). Hier wurden 2 Stämme der aus Erysipel- und Scharlachkranken isolierten hämolytischen Streptokokken verwendet. Die Versuche ergaben, daß die Leptospiren von den hämolytischen Streptokokken aus Erysipelkranken derartig beeinflußt wurden, daß die meisten von ihnen nach 12 Tagen noch lebhaft beweglich blieben, wenn auch mehr oder weniger intensiv, während von den hämolytischen Scharlach-Streptokokken die *L. icterohaemorrhagiae* und *L. akiyami* beeinflußt wurden.

Daß die Leptospiren hier im allgemeinen wenig geschädigt wurden, ist zwar zum Teil darauf zurückzuführen, daß die hämolytischen Streptokokken sich

belle VII.

Bac. coli.

Bac. coli communior					Bac. coli haemolyticus				
vor	1	3	7	14	vor	1	3	5	12
+++	(+)	(+)	—	—	+++	(+)	((+))	—	—
+++	(+)	(+)	—	—	+++++	(+)	((+))	—	—
+++	+	(+)	—	—	+++	(+)	—	—	—
+++	+	—	—	—	+++	(+)	((+))	—	—
+++	(+)	(+)	—	—	+++	(++)	((+))	—	—
+++	+	(+)	—	—	+++	(+)	((+))	—	—
+++	+	—	—	—	+++++	(++)	((+))	—	—
+++	(+)	—	—	—	+++	(+)	((+))	—	—
+++	(+)	—	—	—	+++	(+)	((+))	—	—
+++	(+++)	+++	+++	++	+++++	(+++)	((+++))	((+))	—
+++++	(+++)	+++	+++	+++	+++++	(++)	((+))	((+))	—

Symbiose mit Strept. haemolytic

Bakterien:	Erysipel-Streptokokken					Scharlach-Streptokokken				
Tage:	vor	1	3	5	12	vor	1	3	7	15
Leptospiren										
L. icterohaem. Nr. 4	+++	++	++	++	+	+++	+++	++	+	—
L. icterohaem. Nr. 5	++++	+++	+++	+++	+	++	++	+	—	—
L. icteroides	+++	+++	+++	+++	+	+++	+++	++	++	++
L. akiyami A Nr. 1	+++	++	++	++	++	+++	+++	++	++	++
L. akiyami A Nr. 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	+
L. akiyami B Nr. 1	++	+	+	+	+	+++	+++	+	±	—
L. akiyami B Nr. 2	++++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—
L. hebdomadis	+++	++	++	++	+	++	++	+	±	—
Sp. febrilis	+++	++	++	++	+	++	+++	++	++	++
Wasserleptospira (E)	++++	+++	+++	+++	+	++++	++++	++++	++++	++++
Wasserleptospira (T)	++++	+++	+++	++	++	+++	+++	+++	+++	+++

Ta

Zusammenfassende

	Eisen	Blei	Hg	Cu	Kollargol 1:250	Elektro- Selenium 1:250
Tage:	14	14	7	3	32	11
L. icterohaem. Nr. 4	+++	—	—	—	—	—
L. icterohaem. Nr. 5	++++	—	—	±	++	—
L. icteroides	++++	—	—	—	+	—
L. akiyami A Nr. 1	+++	+++	—	—	+	+
L. akiyami A Nr. 2	++	++	±	—	+++	—
L. akiyami B Nr. 1	++	+++	—	—	++	++
L. akiyami B Nr. 2	—	—	+	—	++	+
L. hebdomadis	+	++	—	—	+++	—
Sp. febrilis	+++	++	—	—	—	+
Wasserleptospira (E)	++++	++++	++++	++++	+	+++
Wasserleptospira (T)	++++	+++	++++	+++	+++	+++

in der zu den Versuchen verwendeten Serum-Ringer-Lösung schlechter vermehrten, als Bac. coli in den vorigen Versuchen, ist aber nicht bloß aus diesem Unterschiede im Entwicklungszustand der Streptokokken zu schließen, denn wenn nach 18stünd. Stehenlassen bei 37° C eine Platinöse dieser Kultur auf Blutagar verimpft wurde, wuchsen immer über 30 Kolonien.

3) Symbiose mit Typhus- und Paratyphusbazillen (Tab. VIII).

Von Typhusbazillen wurden die pathogenen Leptospiren so stark beeinflusst, daß sie schon nach 1 Tage schlecht beweglich, nach 7 Tagen aber ganz unbeweglich wurden und abstarben, während die Wasserleptospiren fast unbeeinflusst blieben, so daß viele von ihnen noch nach 2 Wochen lebhaft beweglich waren.

Die Paratyphusbazillen scheinen im allgemeinen schwächer zu wirken, als die Typhusbazillen; viele Leptospiren waren noch nach 3 Tagen beweglich, aber die pathogenen verloren nach 7 Tagen alle ihre Beweglichkeit und starben nach 2 Wochen ab. Auch hier waren die Wasserleptospiren weit resistenter, als die pathogenen, so daß sie noch nach 2 Wochen lebhaft beweglich waren. Von den pathogenen zeigte nur 1 Stamm der L. febrilis stärkere Resistenz.

belle VIII.
und Typhusbazillen.

Typhusbazillen					Paratyphus B-Bazillen				
vor	1	3	7	14	vor	1	3	7	14
+++	(++)	(+)	—	—	+++	++	++	((+))	—
+++	(++)	(+)	(+)	—	+++	++	+	((+))	—
+++	(+)	(+)	—	—	+++	+++	+++	((+))	—
+++	(++)	(+)	—	—	+++	+++	+++	((+))	—
++	(++)	(++)	—	—	++	(++)	((++))	((±))	—
+++	(+)	(+)	—	—	+++	++	++	—	—
+++	(++)	(+)	—	—	+++	—	—	—	—
+++	(+)	(+)	—	—	++	—	—	—	—
+++	(+)	(+)	—	—	+++	+++	+++	+++	+++
+++++	++++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
+++++	++++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

belle IX.
Tabelle.

1proz. Serum	1,2proz. NaCl	Rinder- galle 1:100	Taurochol- säure 1:1500	Symbiose mit Bac. Coli	Erysipel- Streptok.	Scharlach- Streptok.	Para- typhus- Baz.
5	10	5	4	2	12	15	3
+	++	—	—	—	+	—	++
++	±	—	—	(+)	+	—	+
+	—	—	—	(+)	+	++	+++
++	++	+++	++	(+)	++	++	+++
+++++	+	±	+	—	+++	+	((++))
++	++	—	+	((+))	+	—	++
+++	++	+++	±	((++))	+++	—	—
++	(+)	—	—	((+))	+	—	—
+++	—	+++	++	(+)	+	++	+++
+++++	+++	+++	+++	+++	+	+++	+++
+++++	++	++	+++	+++	++	+++	+++

Faßt man die Ergebnisse der obigen Untersuchungen auf Symbiose der Leptospiren mit Bakterien verschiedener Art zusammen, so ergibt sich daraus, daß die hämolytischen Streptokokken auf die Leptospiren fast keinen Einfluß ausübten, was mit den Ergebnissen der von Noguchi angestellten Untersuchungen auf die Symbiose der *L. icterohaemorrhagiae* mit *Streptococcus Brown A.* und *K.* 4 übereinstimmt. Ferner zeigte sich, daß die Leptospiren alle bei Symbiose mit dem *Bac. coli haemolyticus* in einigen Tagen zum Absterben gebracht wurden, wobei der *Bac. coli communis* die pathogenen alle in einigen Tagen zugrunde richtete. Dieses Ergebnis stimmt im ganzen mit dem der Versuche von Noguchi und Manteufel mit der *L. icterohaemorrhagiae* überein, doch waren die Wasserleptospiren viel resistenter und zeigten keinen Einfluß. Endlich zeigte sich noch, daß beim Zusammenleben mit Typhus- und Paratyphusbazillen die pathogenen *L.* mit dem Versuchsergebnis von Noguchi im ganzen übereinstimmen, die Wasserleptospiren aber viel weniger beeinflußt wurden, so daß sie noch nach 2 Wochen beweglich blieben.

10. Zusammenfassung und Schlußfolgerungen.

Vergleicht man mit einem Ueberblick der obigen Versuche die bekannten pathogenen Leptospiren, d. h. *L. icterohaemorrhagiae*, *L. icteroides*, *L. hebdomadis* Typus A und B, den Erreger des Siebentagefiebers (*L. hebdomadis* B) und *L. febrilis*, mit den morphologisch ihnen ähnlichen, aus dem Wasser gezüchteten saprophytischen Leptospiren, so findet man, daß die Leptospiren alle starke Resistenz gegen Saponin, eine starke Empfindlichkeit gegen konzentrierte Galle und Säuren usw. gemein haben, gegen die oligodynamische Wirkung der Metalle aber verschieden resistent und bei Symbiose mit anderen Bakterien verschieden lebensfähig sind. Es ist daher anzunehmen, daß in diesen Beziehungen die Wasser-Leptospiren gegenüber den bekannten pathogenen spezifisch sind. Sollte diese Verschiedenheit davon abhängen, ob die beiden Leptospiren pathogen sind oder nicht, mit andern Worten, einmal durch einen Tierkörper passiert sind oder nicht, so ist zu vermuten, daß die Wasserleptospiren nach der Passage durch den Tierkörper vielleicht diese Eigenschaft verlieren könnten, was aber bis jetzt noch nicht erwiesen ist. Der Stamm Erlangen kann manchmal ein Tier krank machen, obgleich die Reinkultur der durch den Körper derselben mehrmals passiertenen Leptospiren uns noch nicht gelungen ist. Da diese spezifische Eigenschaft der Wasserleptospiren auch nach lange fortgesetzter Ueberimpfung in Kaninchenserum immer noch zu finden ist, muß sie sich wohl nicht in kurzer Zeit verändern lassen. Da die saprophytischen Wasserleptospiren, welche überall verbreitet sind, eine weit stärkere Resistenz gegen äußere Einflüsse, besonders gegen die oligodynamische Wirkung haben, als die pathogenen, so wird es wohl im Vergleich mit der Annahme von P. Saxl von Interesse sein, daß im allgemeinen die saprophytischen Bakterien gegen letztere Wirkung widerstandsfähiger sind, als die pathogenen.

Die obigen Versuchsergebnisse lassen sich folgendermaßen zusammenfassen:

1) Bei vergleichender Untersuchung von 9 Stämmen der pathogenen und 2 Stämmen der Wasserleptospiren bezüglich der Resistenz gegen die Einflüsse von Eisen, Blei, Kupfer und Quecksilber, die sogenannte oligodynamische Wirkung der Metalle, findet man, daß besonders bei Kupfer und Quecksilber die Wasserleptospiren resistenter waren, als die pathogenen, so daß sie noch nach 20 Tagen unbeeinflußt blieben, während die letzteren alle in 3—7 Tagen im Wachstum gehemmt wurden und abstarben. Von den Metallen wirkte am schwächsten das Eisen, welchem dann das Blei folgte, und von den pathogenen wurden die *L. icterohaemorrhagiae* und *L. icteroides* am stärksten beeinflußt. Bezüglich der Wirkung der Verdünnungslösung der kolloidalen Metalle — Elektrokollargol und Elektroselenium — fanden sich keine so deutlichen Unterschiede zwischen den pathogenen und Wasserleptospiren, wie bei der erwähnten Metallwirkung, weshalb im allgemeinen die letzteren weit resistenter, als die ersteren waren. — 2) Die Untersuchung auf die für die Kultur notwendige Konzentration des Serums ergibt, daß die Wasserspirochäten auch in verdünntem Serum sich günstiger entwickelten und länger leben konnten, als die pathogenen. — 3) Bei der Untersuchung der Einflüsse der Kochsalzkonzentration auf das Wachstum der Leptospiren zeigte es sich, daß die letzteren, die an eine verdünnte, allmählich stärker konzentrierte Lösung gewöhnt sind,

fast keine Unterschiede zwischen einer 1,2proz. und einer 0,8proz. in der Entwicklung aller Leptospiren erkennen ließen, in einer 1,4proz. aber, mit Ausnahme eines Stammes der *L. akiyami* und der Wasserleptospiren, im allgemeinen ein schlechtes, in einer 1,5proz., die pathogenen aber bis auf 1 Stamm kein Wachstum zeigten, während die Wasserleptospiren etwas resistenter waren und kurze Zeit leben konnten, allmählich aber unbeweglich und im Wachstum gehemmt wurden. — 4) Bei Untersuchung auf den Einfluß der Galle fand sich, daß für eine konzentrierte Lösung alle Leptospiren sehr empfindlich und weniger resistent waren, und daß zwischen den einzelnen Stämmen fast kein Unterschied zu finden war, während in der verdünnten Lösung die Wasserleptospiren stärkere Resistenz zeigten, als die pathogenen. Von den letzteren waren *L. icterohaemorrhagiae* und *L. icteroides* am wenigsten resistent. — 5) Gegen Saponin zeigten die Leptospiren alle starke Resistenz, so daß eine 10proz. Saponinlösung keinen Einfluß auf dieselben übte. — 6) Gegen Salz- und Essigsäure waren die Leptospiren so empfindlich, daß sie in einer 0,1proz. Lösung schon nach 5—15 Min. abstarben; deutliche Unterschiede zwischen den einzelnen Leptospiren waren nicht zu bemerken. — 7) 25—37° C sind die für das Wachstum geeigneteste Temperatur; die Leptospiren wurden aber bei 40° im Wachstum gehemmt, bei 42° gingen sie nach und nach zugrunde, ohne daß dabei zwischen den einzelnen Unterschiede zu finden waren. — 8) Die Untersuchungen auf Symbiose mit anderen Bakterien haben ergeben, daß die Leptospiren durch den *Streptococcus haemolyticus* nicht bedeutend beeinflußt waren, und daß der *Bac. coli communis* die pathogenen in einigen Tagen zum Absterben brachte, auf die Wasserleptospiren aber, welche weit resistenter waren, fast keinen Einfluß übte, so daß die letzteren lange Zeit ihre Beweglichkeit beibehielten. Ferner ergab sich, daß *Bac. coli haemolyticus* auf alle ohne Unterschied einen so auffallenden Einfluß ausübte, daß sie nach 2—3 Tagen abstarben, und endlich, daß die Typhus-, wie auch die Paratyphusbazillen die pathogenen Leptospiren früher oder später abtöten, auf die Wasserleptospiren aber wenig wirkten.

Bei der Vergleichung der äußeren Einflüsse auf alle Leptospiren bezüglich ihrer Stärke (Tab. IX) ergab sich, daß die Gruppe der *L. icterohaemorrhagiae* am wenigsten resistent ist; zu ihr kann auch der fast gleich resistente *L. icteroides* gehören, worauf dann *L. akiyami* und die Leptospiren des Siebentagefiebers folgen, welche beide ein und dieselbe Gruppe bilden, in die sich *L. febrilis* wegen ihrer ähnlichen Eigenschaft einreihen läßt. Man kann daher die Leptospiren durch die verschiedene Stärke ihrer Resistenz in pathogene und saprophytische Wasserleptospiren und die ersteren weiter in folgende 2 Gruppen einteilen:

- 1) Die *Icterohaemorrhagiae*-Gruppe, die am wenigstens resistent ist und zu der *Leptospira icterohaemorrhagiae* und *L. icteroides* gehören. —
- 2) *Akiyami hebdomadis*-Gruppe, zu welcher *L. hebdomadis* (*akiyami*) Typus A und B, die Leptospiren des Siebentagefiebers (*L. hebdomadis* Typ B) und *L. febrilis* gehören, die viel weniger resistent, als die Wasserleptospiren,

im allgemeinen aber resistenter sind, als die *L. icterohaemorrhagiae*. — Vom serologischen Standpunkt aus erklärt Shiozawa, daß sich die *L. icteroides* in die Gruppe der *L. icterohaemorrhagiae* einreihen läßt, womit das Versuchsergebnis des Verf. auch bezüglich ihrer Resistenz übereinstimmt. Auch nimmt er auf Grund der Serologie an, daß die *Leptospira febrilis* der Gruppe der *L. icterohaemorrhagiae* ähnlich sei; meine Versuche ergeben aber, daß die erstere sich nach ihrer Resistenz an die *Hebdomadis*-Gruppe (besonders *L. akiyami* Nr. 1) anschließt.

Zum Schlusse halte ich es für meine Pflicht, meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. Inada, für seine Anleitung bei meiner Arbeit und für die Durchsicht derselben, sowie Herrn Dr. Shiozawa für seine vielfachen Unterstützungen meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

Literatur.

- 1) Angerer, K. V., Arch. f. Hyg. Bd. 91. 1922. S. 183. — 2) Ders., Ebenda. Bd. 92. 1923. S. 325. — 3) Bach, F. W., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 87. S. 198. — 4) Beger, Ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 91. S. 90. — 5) Dietrich, Ztschr. f. Immunitätsf. Bd. 26. 1917. — 6) Fromme, Ergebn. d. Hyg. Bd. 4. S. 21. — 7) Hindle, E., Brit. med. Journ. Vol. 2. 1925. p. 57. — 8) Inada, Ido, Hoki, Kaneko a. Ito, Journ. exp. Med. Vol. 23. 1916. — 9) Komatsu, Saikingakuzasshi. Nr. 291. p. 873. — 10) Koshina, Shiozawa u. Kitayama, Journ. of exp. Med. Vol. 42. 1925. — 11) Kouvenaar, Ztschr. f. inn. Med. Bd. 41. 1926. S. 419 [Ref.]. — 12) Manteufel, Dtsch. med. Wochenschr. 1921. Nr. 17. — 13) Noguchi, New York Journ. Med. Vol. 22. 1922. — 14) Ders., Journ. Exp. Med. Vol. 27. 1918. — 15) Ders., Ebenda. Vol. 28. 1918. — 16) Oba, Eiseigaku-Densenbyogaku Zasshi. Bd. 13. — 17) Ohara, Ijishimbun. Nr. 650. — 18) Shiga, A., Ztschr. f. Immunitätsf. Bd. 40. 1924. — 19) Uhlenhuth u. Fromme, Ebenda. Bd. 28. 1919. — 20) Uhlenhuth u. Zuelzer, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 85. 1921. — 21) Dies., Klin. Wochenschr. Jhg. 1. 1922. Nr. 43. — 22) Uhlenhuth u. Großmann, Ztschr. f. Bakt. 1926. H. 3/4. — 23) Dies., Klin. Wochenschr. Jhg. 5. 1926. Nr. 25 u. 26. — 24) Wolbach a. Binger, Journ. Med. Res. Vol. 30. — 25) Zuelzer, Centralbl. f. Bakt. 1922. Juni. — 26) Ders. u. Oba, Ztschr. f. Bakt. Bd. 91. 1924. — 27) Vervoort, H., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 76. 1924. — 28) Saxl, P., Wien. klin. Wochenschr. 1917. Nr. 31. — 29) Ders., Die oligodynamische Wirkung der Metalle und Metallsalze.

Nachdruck verboten.

Immunologische Beziehung zwischen verschiedenen Leptospiren.

[Aus der Med. Klinik von Prof. Dr. R. Inada (Kaiserliche Universität zu Tokyo).]

Von Soichi Shiozawa.

Zur Untersuchung kamen folgende Leptospiren: 1) *Lept. icterohaemorrhagiae* Nr. 4 und 2) *Lept. icterohaemorrhagiae* Nr. 5.

Beide Stämme wurden in unserer Klinik vor 5–6 Jahren aus an *Leptospirosis icterohaemorrhagica*-Kranken isoliert. Nr. 4 war noch stark virulent gegen Meerschweinchen, so daß geimpfte Tiere unter typischen Symptomen nach etwa 4tägiger Inkubation zugrunde gingen. Auch Nr. 5 war virulent gegen Meerschweinchen, aber etwas schwächer als Nr. 4.

3) *Lept. hebdomadis* Typus A Nr. 1 und 4) *Lept. hebdomadis* Typus A Nr. 2.

Diese 2 Stämme wurden von uns 1922 aus „Akiyami“-Kranken in der Präfektur Shizuoka isoliert. Nr. 2 hat noch starke Virulenz gegen Meerschweinchen, so daß geimpfte Tiere unter typischen Symptomen nach 5—7tägiger Inkubation starben, doch ist die Virulenz von Nr. 1 nicht sehr bedeutend und tötet das Meerschweinchen nur selten.

5) *Lept. hebdomadis* (Nanukayami) wurde 1922 in Kyushu aus „Nanukayami“-Kranken isoliert. 6) *Lept. hebdomadis* Typus B Nr. 1. 7) *Lept. hebdomadis* Typus B Nr. 2. Beide Stämme wurden 1922 von uns aus „Akiyami“-Kranken isoliert.

Diese letzten 3 Stämme haben die Virulenz gegen Meerschweinchen fast verloren und nur selten starb das geimpfte Tier.

8) *Lept. icteroides* wurde 1924 Herrn Prof. Dr. Inada auf seinem Rückwege aus Europa von Herrn Dr. Noguchi geschenkt. Dieser Stamm hat noch gegen Meerschweinchen Virulenz, so daß das geimpfte Tier unter typischen Symptomen nach 5—7tägiger Inkubation starb.

9) *Sp. febrilis* war von Herrn Dr. Vervoort im Herbst 1925 Herrn Prof. Dr. Inada mitgebracht worden. Dieser Stamm soll in Sumatra aus einem Patienten mit akut fieberhafter Krankheit entnommen worden sein. Nach den Angaben von Dr. Vervoort dauert das plötzlich auftretende Fieber etwa 5—9 Tage, wobei Ikterus aber selten auftritt. Die Virulenz gegen Meerschweinchen ist so schwach, wie die der *Lept. hebdomadis* Typus B.

10) Die Wasserleptospire (Erlangen), welche Dr. A. Shiga aus Deutschland mitgebracht hatte, wurde mir von Herrn Dr. Takagi geschenkt und 11) die Wasserleptospire (Tokyo) 1925 aus Leitungswasser in Tokyo von mir isoliert. Ueber diese 2 Wasserleptospiren werde ich eingehend in einer anderen Abhandlung berichten.

Angewandte Sera:

1) Kaninchenimmunsera: Aus Kaninchen entnommen, welche mit einzelnen Stämmen nach der Uhlenhuthschen oder Obaschen Methode immunisiert waren. — 2) Pferdeimmunserum von *Lept. icterohaemorrhagiae*, das im Institut für Infektionskrankheiten zu Tokyo hergestellt worden war. — 3) Rekonvaleszenzserum von *Leptospirosis icterohaemorrhagica*, aus Kranken, welche in unsere Klinik 1925—1926 aufgenommen waren, entnommen. All diese Sera wurden im Eisschrank ohne Karbolzusatz aufbewahrt.

I. Agglutination.

Obasche Methode: 2 ccm von 4proz. Ringer-Agar und 0,5 ccm Immunserum, verdünnt mit normalem Kaninchenserum im absteigenden Grad wie in Tab. I gemischt, dann 3 gtt von vollentwickelter Ringer-Kultur von *Leptospira* zugesetzt. Dunkelfelduntersuchung nach 3—4tägigem Stehenlassen im Brutschrank (37° C). Fiel die Reaktion positiv aus, so sah man agglutinierte Leptospiren, welche bewegungslos waren und sich in großer Anzahl fast wie zu einem Haarknäuel zusammengeballt hatten.

Fiel die Reaktion stark positiv aus, so bemerkte man in der Mitte der agglutinierten Leptospirenmasse keine *Leptospira*-Gebilde mehr, sondern nur leuchtende Körnchen. War dagegen die agglutinierende Wirkung der Immunsera schwach, so bemerkte man noch die *Leptospira* in größerer Zahl im Gesichtsfeld bewegungslos zerstreut, stellenweise in Knäuelform agglutiniert.

Die Resultate waren folgende (Tab. I):

Leptospira icteroides wurde durch Immunserum von *Lept. icterohaemorrhagiae* approximativ dem Titer derselben entsprechend agglutiniert; ihr Immunserum agglutinierte die *Lept. icterohaemorrhagiae* fast

Tabelle I.
Agglutination.
(Von Juni 1925 bis Februar 1926 ausgeführt.)

Serumverdünnung	Icterohaem. Nr. 4	Icterohaem. Nr. 5	Icteroides	Hebdomadis Typ. A Nr. 1	Hebdomadis Typ. A Nr. 2	Hebdomadis Typ. B Nanukayami	Hebdomadis Typ. B Nr. 1	Hebdomadis Typ. B Nr. 2	Sp. febrilis	Wasserlept. Erlangen	Wasserlept. Tokyo
Icterohaem. Nr. 1	20	+	.	+	.	—	—	.	+	—	—
	40	+	.	+	.	—	—	.	++	—	—
	80	+	.	+	.	—	—	.	—	—	—
	160	+	.	+	.	—	—	.	—	—	—
	320	+	.	±	.	—	—	.	—	—	—
	640	—	.	—	.	—	—	.	—	—	—
Icteroides	20	+	+	+	—	—	.	—	+	—	—
	40	+	+	+	—	—	.	—	+	—	—
	80	+	+	+	—	—	.	—	—	—	—
	160	+	+	+	—	—	.	—	—	—	—
	320	+	±	+	—	—	.	—	—	—	—
	640	—	—	+	—	—	.	—	—	—	—
Hebdomadis Typ. A Nr. 2	20	—	.	—	+	+	.	.	—	—	—
	40	—	.	—	+	+	.	.	—	—	—
	80	—	.	—	+	+	.	.	—	—	—
	160	—	.	—	+	+	.	.	—	—	—
	320	—	.	—	±	+	.	.	—	—	—
	640	—	.	—	—	—	.	.	—	—	—
Sp. febrilis	20	+	.	+	.	—	.	.	+	—	—
	40	+	.	+	.	—	.	.	+	—	—
	80	±	.	±	.	—	.	.	+	—	—
	160	±	.	±	.	—	.	.	+	—	—
	320	—	.	—	.	—	.	.	—	—	—
	640	—	.	—	.	—	.	.	—	—	—
Hebdomadis Typ. β (Nanukayami)	20	—	.	—	.	+	+	+	—	—	—
	40	—	.	—	.	+	+	+	—	—	—
	80	—	.	—	.	+	+	+	—	—	—
	160	—	.	—	.	+	+	+	—	—	—
	320	—	.	—	.	+	+	+	—	—	—
	640	—	.	—	.	—	—	—	—	—	—
Wasserlept. Erlangen	20	—	.	—	.	.	—	—	—	+	±
	40	—	.	—	.	.	—	—	—	+	—
	80	—	.	—	.	.	—	—	—	+	—
	160	—	.	—	.	.	—	—	—	+	—
	320	—	.	—	.	.	—	—	—	+	—
	640	—	.	—	.	.	—	—	—	+	—
Wasserlept. Tokyo	20	—	.	—	.	—	.	.	—	—	+
	40	—	.	—	.	—	.	.	—	—	+
	80	—	.	—	.	—	.	.	—	—	+
	160	—	.	—	.	—	.	.	—	—	+
	320	—	.	—	.	—	.	.	—	—	±
	640	—	.	—	.	—	.	.	—	—	—
Pferdeimmun- serum von Lept. ictero- haemorrhag.	20	.	+	+	—	—
	40	.	+	+	—	—
	80	.	+	+	—	—
	160	.	+	+	—	—
	320	.	—	—	—	—
	640	.	—	—	—	—

gleich stark. Auch Kaninchen- und Pferdeimmunserum des letzteren agglutinierte die *Lept. icterohaemorrhagiae* und *icteroides* gleichgradig.

Sp. febrilis zeigte sowohl durch Immunserum von *Lept. icterohaemorrhagiae* als auch durch das von *Lept. icteroides* Agglutination, aber in beiden Fällen schwächer als dem Titer entsprechend. Ihr Immunserum vermochte sowohl die eigene *Leptospira* als auch diese 2 obengenannten Leptospiren zu agglutinieren, im letzteren Falle aber schwächer als sich selbst.

Lept. hebdomadis Typus A oder B agglutinierte sich nur durch homologes Immunserum; durch ihr Immunserum werden alle heterogenen Stämme nicht agglutiniert; zwischen Typus A und B findet keine Agglutinationsreaktion statt.

Die Agglutination der beiden saprophytischen Wasserleptospiren (Erlangen und Tokyo) läßt sich nur durch eigenes Immunserum erzielen, und ebenso diese beiden einerseits und andere pathogene Leptospiren andererseits.

Kultivierungsversuche in verschiedenen Immunseren.

Uhlenhuth hat früher festgestellt, daß *Lept. icterohaemorrhagiae* in ihrem Immunserum nicht wächst, welche Tatsache A. Shiga zur Differenzierung von Wasserleptospiren und *Lept. icterohaemorrhagiae* angewendet hat.

Ich verwendete diese Methode auch zur Differenzierung: man setzt 3 gtt von gut entwickelter *Leptospira*-Ringer-Kultur in 2,5 ccm-Gemisch von Immunserum und sterilisiertem Leitungswasser (1:10) hinzu, welches vor dem Zusatz der *Leptospira* im 57°–60° C-Wasserbad 1 Std. lang erwärmt und dann bei 37° C aufbewahrt wurde. Dunkelfelduntersuchung am 3., 6. und 9. Tage. Hält man solche Fälle für positiv, wo die *Leptospira* im Immunserum sich nicht entwickelt, oder in Haufen stark agglutiniert, oder in mehreren Dutzenden von Gesichtsfeldern nur 1 davon zu finden ist, so ergab sich folgendes (Tab. II, S. 84 u. 85):

Lept. icterohaemorrhagiae, *icteroides* und *Sp. febrilis* wurden alle ohne Unterschied von 3 einzelnen Immunseris positiv beeinflusst, während *Lept. hebdomadis* Typus A und B und die Wasser-*Leptospira* (Erlangen und Tokyo) allein nur von homologem Immunserum, von heterogenem aber kaum angegriffen worden sind.

Außerdem gebrauchte ich, wie Tab. II zeigt, auch Pferdeimmunserum von *Lept. icterohaemorrhagiae* in diesem Versuche; das Ergebnis davon war ganz gleich dem des Kaninchenimmunserumversuches mit *Lept. icterohaemorrhagiae*.

Pfeiffersche Reaktion mit Kaninchen-Immunserum.

Angewandt wurde die gewöhnliche Methode: Ein Gemisch von je 1 ccm des Immunserums und Leberemulsion, welche in jedem Gesichtsfeld über 10 Leptospiren enthielt, wurde einem Meerschweinchen intraperitoneal eingespritzt und 30 Min. und 2 Std. danach Peritonealexsudat durch Punktion entnommen und mit Dunkelfeldbeleuchtung untersucht.

Das weitere Schicksal der geimpften Meerschweinchen wurde genau beobachtet. Die gestorbenen wurden sezirt, so daß die Ergebnisse der Punktatuntersuchung durch pathologisch-anatomische Befunde noch gesichert wurden.

Die Resultate glichen denen beim vorigen Versuche: *Lept. icterohaemorrhagiae*, *icteroides* und *Sp. febrilis* wurden sowohl durch eigenes Immunserum wie auch je durch 2 andere Immunsere in der Bauchhöhle von Meerschweinchen aufgelöst. Die Immunsere von *Lept. hebdomadis* Typus A

Ta
Kultivierungsversuche
(Von Juni 1925 bis

Leptospirastämme	Immun								
	Icterohaem. Nr. 4			Icteroides			Febrilis		
	Tage			Tage			Tage		
	3	6	9	3	6	9	3	6	9
Icterohaem. Nr. 4	—	—	—	—	—	+ ¹⁾	—	+ ¹⁾	—
" " 5	—	—	—	—	—	+ ¹⁾	× ²⁾	—	+ ¹⁾
Icteroides	—	—	+ ¹⁾	—	—	—	+ ¹⁾	+ ¹⁾	+ ¹⁾
Hebdomadis Typ. A Nr. 1	□	□	□	○	□	○	○	○	○
" " B " 2	○	□	□	○	○	○	○	×	○
Hebdomadis Typ. B Nanukayami	□	□	□	○	○	×	×	×	×
dgl. Nr. 1	×	□	×	○	□	□	□	○	□
" " 2	□	□	□	□	□	□	□	×	□
Sp. febrilis	—	+ ²⁾	○ ²⁾	+ ²⁾	+ ¹⁾	+ ²⁾	—	—	+ ¹⁾
Wasserlept. Erlangen	—	×	○	+	+	+	○	×	×
" Tokyo	×	×	□	+	□	□	×	×	×

1) Sehr spärlich. 2) Agglutiniert.
 + = 1 in mehreren Gesichtsfeldern } Lept. sichtbar.
 ○ = 1—4 in jedem Gesichtsfeld }

Ta
Pfeiffersche Reaktion

Nr. von Meerschw.	Serum		Emulsion der Leber		Lept.-Befund der nach 30 Min.
	Arten	Menge	Arten	Menge	
1	Icterohaem. Nr. 4	1 ccm	Icterohaem. Nr. 4	1 ccm	nicht sichtbar
2	Icteroides	dgl.	dgl.	dgl.	nicht sichtbar
3	Hebdomadis Typ A Nr. 2	"	"	"	1 in 5—6 Gf. lebhaft
4	Kontrolle (Kochsalzlösung)	"	"	"	1—2—3 in 1 Gf. lebhaft
1	Icteroides	1 ccm	Icterohaem.	1 ccm	nicht sichtbar
2	Sp. febrilis	"	"	"	nicht sichtbar
3	Wasser Erlangen	"	"	"	1 in jedem 5—6 Gf. lebhaft
4	Wasser Tokyo	"	"	"	1 in mehreren Dutzenden v. Gf. lebhaft
5	Kontrolle	"	"	"	1 in jedem 4—5 Gf. lebhaft
1	Icteroides	1 ccm	Icteroides	1 ccm	nicht sichtbar
2	Icterohaem. Nr. 4	"	"	"	nicht sichtbar
3	Hebdomadis Typ. A Nr. 2	"	"	"	1—2 in jedem 5—6 Gf. lebhaft
4	Hebdomadis Typ. B	"	"	"	1 in jedem 2—3 Gf. lebhaft
5	Kontrolle	"	"	"	2—3 in jedem 1—2 Gf. lebhaft
1	Sp. febrilis	1 ccm	Icteroides	1 ccm	nicht sichtbar

Nr. von Meerschw.	Serum		Emulsion der Leber		Lept.-Befund der nach 30 Min.
	Arten	Menge	Arten	Menge	
2	Wasserlept. Tokyo	1 cem	Icteroides	1 cem	1 in jedem 2—3 Gf. lebhaft
3	Wasserlept. Erlangen	„	„	„	1 in jedem 2—3 Gf. lebhaft
4	Pferdeimmunser. von Icterohaem.	„	„	„	nicht sichtbar
5	Kontrolle	„	„	„	1 in über 10 Gf. lebhaft
1	Hebdomadis Typ. A Nr. 2	1 cem	Hebdomadis Typ. A Nr. 2	1 cem	nicht sichtbar
2	Wasser Erlangen	„	dgl.	„	einige in 1 Gf. lebhaft
3	Wasser Tokyo	„	„	„	1 in 4—5 Gf. lebhaft
4	Icteroides	„	„	„	1 in 2—3 Gf. lebhaft
5	Sp. febrilis	„	„	„	1 in 2—3 Gf. lebhaft
6	Kontrolle	„	„	„	einige in 1 Gf. lebhaft
1	Hebdomadis Typ. A	1 cem	Hebdomadis Typ. A Nr. 2	1 cem	nicht sichtbar
2	Icteroides	„	dgl.	„	1—2 in 3—4 Gf. lebhaft
3	Icterohaem.	„	„	„	1 in 1—2 Gf. lebhaft
4	Kontrolle	„	„	„	1 in 1—2 Gf. lebhaft

und B und von 2 Wasserleptospiiren wirkten nicht auf obengenannte 3 Leptospiren, sondern nur auf zugehörige Leptospira-Stämme lytisch (Tab. III).

In diesem Versuche wurde etwas Abweichendes beobachtet: Meerschweinchen, welche mit einem Gemisch von Immunserum der Lept. hebdomadis Typus A und je Lept. icteroides und icterohaemorrhagiae injiziert wurden, starben am gleichen Tage wie das Kontrolltier, aber ihre Sektionsbefunde waren ganz negativ. Wie die Tabelle zeigt, war 1 Meerschweinchen, das mit einem Gemisch von Immunserum der Lept. hebdomadis Typus A und Leberemulsion der Lept. icteroides injiziert worden war, 5 Tage später als das Kontrolltier unter typischen Symptomen zugrunde gegangen.

Tabelle IV.

Uebersichtliche Tabelle von Pfeifferscher Reaktion mit Kaninchen- und Pferdeimmunserum.

Lept.-Stamm	Immunserum							Pferdeimmunser. von Icterohaem.
	Icterohaem.	Icterooides	Sp. febrilis	Hebd. Typ. A	Hebd. Typ. B	Wasserlept. (Erlangen)	Wasserlept. (Tokyo)	
Icterohaem. Nr. 4	+	+	+	—	—	—	—	+
Icteroides	+	+	+	—	—	—	—	+
Sp. febrilis	+	+	+	—	—	—	—	×
Hebd. Typ A Nr. 2	—	—	—	+	—	—	—	—
Hebd. Typ B	—	×	—	—	+	—	—	—
Nanukayami	—	×	—	—	+	—	—	—
Wasserlept. Erlangen	—	—	—	—	—	+	—	—
Wasserlept. Tokyo	—	—	—	—	—	—	+	—

× nicht aus geführt.

Bauchpunktate nach 2 Std.	Ausgang d. Tiere (Tage bis z. Tdd)	Sektions- befund	Resultat	
1 in jedem 2—3 Gf. lebhaft	starb (5 T.)	+	—	
1 in jedem 2—3 Gf. lebhaft	starb (6 T.)	+	—	
nicht sichtbar	starb (7. T.)	—	+	
1 in 2—3 Gf. lebhaft	starb (5 T.)	+	—	
nicht sichtbar	starb (7 T.)	—	+	13. Juni 1925
einige in 1 Gf. lebhaft	starb (5 T.)	+	—	
1 in 4—5 Gf. lebhaft	starb (5 T.)	+	—	
1 in 4—5 Gf. lebhaft	starb (5 T.)	+	—	
1 in 2—3 Gf. lebhaft	starb (5 T.)	+	—	
einige in 1 Gf. lebhaft	starb (5 T.)	+	—	
nicht sichtbar	gesund		+	3. März 1926
3—4 in 1—2 Gf. lebhaft	starb (6 T.)	+	—	
1 in 1—2 Gf. lebhaft	starb (8 T.)	+	—	
1 in 3—4 Gf. lebhaft	starb (5 T.)	+	—	

Ein Tier, welches mit Immunserum von *Sp. febrilis* und Leberemulsion von *Lept. icterohaemorrhagiae* injiziert worden war, starb 3 Tage später als das Kontrolltier, dabei waren alle Befunde, abgesehen von mäßiger Anusblutung, negativ.

Die Gesamtergebnisse der Pfeifferschen Reaktion sind in einer Tabelle zusammengestellt (Tab. IV).

Pfeiffersche Reaktion mit Rekonvaleszentenserum von *Leptospirosis icterohaemorrhagica*.

Ich benutzte diesmal die Rekonvaleszentensera von *Leptospirosis icterohaemorrhagica* und führte die Pfeiffersche Reaktion mit *Lept. icterohaemorrhagiae*, *icteroides*, *febrilis*, *hebdomadis* Typus A und B und der Wasser-*Leptospira* (Erlangen und Tokyo) aus. Die Resultate waren wie in den obigen Versuchen, welche mit Kaninchen-Immunserum von *Lept. icterohaemorrhagiae* ausgeführt waren. Das Rekonvaleszentenserum von Patienten wirkte nur auf *Lept. icterohaemorrhagiae*, *icteroides* und *Sp. febrilis*, nicht aber auf andere *Leptospira*-Stämme.

Tabelle V.

Übersichtliche Tabelle von Pfeifferscher Reaktion mit Rekonvaleszenzserum der *Leptospirosis icterohaemorrhagiae*.

Serum von Patienten	Leptospira-Stämme					
	Icterohaem. Nr. 4	Icteroides	Hebdomadis Typ. A Nr. 2	Sp. febrilis	Wasserlept. (Erlangen)	Wasserlept. (Tokyo)
Ishizuka	+	+	—	×	×	×
Suzuki	+	+	—	×	×	×
Maino	+	+	—	×	×	×
Morinaga	+	—	×	×	×	×
Onishi	+	+	—	×	×	×
Nagafuku	+	+	×	×	×	×
Yamamoto	+	+	×	+	—	—
Tachikawa	+	+	×	×	×	×
Akiyama	+	+	×	+	—	—

× nicht ausgeführt.

Ausnahmsweise sah man aber, daß das Rekonvaleszentenserum vom Patienten Morinaga auf *Lept. icteroides* nicht genug wirkte, und daß das geimpfte Meerschweinchen 5 Tage später, als das Kontrolltier unter typischen Symptomen verendete (Tab. V, S. 88).

Vergleichende Untersuchung der Schutzkraft des einzelnen Immunserums.

Ich versuchte, die Schutzwirkung der Immunsera gegen Infektion durch virulente Leptospiren auf Meerschweinchen miteinander zu vergleichen. Zu diesem Versuche wurden 1 ccm Emulsion der Leber eines Meerschweinchens, welches an *Lept. icterohaemorrhagiae* oder *icteroides* litt, und 1 ccm Immunserum von beiden einzelnen Stämmen, letzteres verdünnt mit physiol. Kochsalzlösung in steigender Konzentration, wie es Tabelle VI zeigt, vermengt und dann in die Bauchhöhle zweier Reihen von Meerschweinchen injiziert. Das Resultat war, daß Kaninchenimmunsera von beiden Leptospiren die Tiere vor Leptospireninfektion fast in gleicher Verdünnung schützen können.

Auch Pferdeimmunserum von *Lept. icterohaemorrhagiae* wirkte in dieser Lage fast wie Kaninchenimmunserum von demselben Stamme (Tab. VI).

Aus folgenden Versuchen ist die Tatsache zu erkennen, daß zwischen den Immunseren von *Lept. icterohaemorrhagiae* und *icteroides* kein Unterschied besteht.

Infektionsversuche nach aktiver Immunisierung.

Zuerst wurden einige Reihen von Meerschweinchen durch Hitze (57° C 30 Min. lang) abgetötetes *Leptospira*-Vakzin 1,0 ccm, 1,5 ccm, 2,0 ccm und dann mit lebenden Leptospiren 1,0 ccm mit 5—6tägigem Intervall be-

Tabelle VI.

Vergleichende Versuche der Schutzkraft von Immunserum gegen *Leptospira*-infektion.

1) Mit Kaninchenimmunserum von *Lept. icteroides*

Nr. d. Meerschw.		1	2	3	4	5	6	7
Serummenge		0,05	0,02	0,01	0,005	0,002	0,001	0
1. Reihe	Art der Leber-emulsion	Icteroides	Icteroides	Icteroides	Icteroides	Icteroides	Icteroides	Icteroides
	Menge der Leber-emulsion	1 ccm	1 ccm	1 ccm	1 ccm	1 ccm	1 ccm	1 ccm
	Ausgang der Tiere	gesund	starb	gesund	starb	starb	starb	starb
	Tage bis zum Tode		(5 T.)		(10 T.)	(6 T.)	(5 T.)	(5 T.)
	Sektionsbefunde:							
	Ikterus		—	—	—	—	—	+
2. Reihe	Blutung		—	—	—	—	+	+
	Lept. in d. Leber		—	—	—	—	+	+
	Art der Leber-emulsion	Icteroh.	Icteroh.	Icteroh.	Icteroh.	Icteroh.	Icteroh.	Icteroh.
	Menge der Leber-emulsion	1 ccm	1 ccm	1 ccm	1 ccm	1 ccm	1 ccm	1 ccm
	Ausgang der Tiere	gesund	starb	gesund	starb	starb	starb	starb
	Tage bis zum Tode		(6 T.)		(7 T.)	(5 T.)	(5 T.)	(4 T.)
	Sektionsbefunde:							
	Ikterus		—	—	—	—	+	+
	Blutung		—	—	—	+	+	+
	Lept. in der Leber		—	—	—	+	+	+

(21. Oktober 1925.)

2) Mit Kaninchenimmunserum von *Lept. icterohaemorrhagiae*.

Nr. d. Meerschw.		1	2	3	4	5	6	7
Serummenge		0,02	0,01	0,005	0,002	0,001	0,0005	0
1. Reihe	Art der Leber-emulsion	Icteroh.	Icteroh.	Icteroh.	Icteroh.	Icteroh.	Icteroh.	Icteroh.
	Menge der Leber-emulsion	1 ccm	1 ccm	1 ccm	1 ccm	1 ccm	1 ccm	1 ccm
	Ausgang der Tiere	starb	starb	starb	gesund	starb	starb	starb
	Tage bis zum Tode	(7 T.)	(7 T.)	(10 T.)		(10 T.)	(8 T.)	(7 T.)
	Sektionsbefunde							
	Ikterus	—	—	—		+	—	+
	Blutung	—	—	—		+	+	+
	Lept. in der Leber	—	—	—		+	+	+
2. Reihe	Art der Leber-emulsion	Icteroides	Icteroides	Icteroides	Icteroides	Icteroides	Icteroides	Icteroides
	Menge der Leber-emulsion	1 ccm	1 ccm	1 ccm	1 ccm	1 ccm	1 ccm	1 ccm
	Ausgang der Tiere	starb	gesund	gesund	gesund	starb	starb	starb
	Tage bis zum Tode	(7 T.)				(6 T.)	(8 T.)	(7 T.)
	Sektionsbefunde							
	Ikterus	—				—	+	+
	Blutung	—				—	+	+
	Lept. in der Leber	—				—	+	+

(13. August 1925.)

Tabelle VI (Fortsetzung).

3. Mit Pferdeimmunserum von *Lept. icterohaemorrhagiae*.

Nr. der Meerschw.		1	2	3	4	5	6	
Serummenge		0,01	0,005	0,002	0,001	0,0002	0	
1. Reihe	Art der Leber-emulsion	Icteroh.	Icteroh.	Icteroh.	Icteroh.	Icteroh.	Icteroh.	
	Menge der Leber-emulsion	1 ccm	1 ccm	1 ccm	1 ccm	1 ccm	1 ccm	
	Ausgang der Tiere	gesund	gesund	gesund	starb	starb	starb	
	Tage bis zum Tode				(7 T.)	(5 T.)	(8 T.)	
	Sektionsbefunde							
	Ikterus				+	+	+	
	Blutung				+	+	+	
	Lept. in der Leber				+	+	+	
2. Reihe	Art der Leber-emulsion	Icteroides	Icteroides	Icteroides	Icteroides	Icteroides	Icteroides	
	Menge der Leber-emulsion	1 ccm	1 ccm	1 ccm	1 ccm	1 ccm	1 ccm	
	Ausgang der Tiere	gesund	gesund	starb	starb	starb	starb	
	Tage bis zum Tode			(6 T.)	(6 T.)	(6 T.)	(6 T.)	
	Sektionsbefunde:							
	Ikterus			+	+	+	+	
	Blutung			+	+	+	+	
	Lept. in der Leber			+	+	+	+	

(15. September 1925.)

(24. September 1925.)

handelt (September 1926). Bei anderen Reihen von Meerschweinchen mit abgetöteten Vakzinen (57° C 30 Min. 1,0 ccm, 1,5 ccm, 3,0 ccm und (50° C 5 Min.) 2,0 ccm, erfolgte die Immunisierung mit *Sp. febrilis* nur mit lebenden Leptospiren 1,0 ccm, 3,0 ccm, 5,0 ccm und 5,0 ccm.

Tabelle VII.

Infektionsversuch nach aktiver Immunisierung.

1. Versuch.

(August—September 1926 ausgeführt.)

Nr. d. Meer-schw.	Lept., welche zur Immunisierung gebraucht wurde	Lept., von neuem intra-peritoneal injiziert	Leptospirabefunde der Bauch-punktate		Ausgang der Tiere (Tage bis zum Tod)	Sektions-befund
			nach 30 Min.	nach 2 Std.		
1	Icterohaem.	Icterohaem.	nicht sichtbar	nicht sichtbar	gesund	
2	"	Icteroides	1 in mehreren Dtz. vom Gf. träg bewegend	vgl.	"	
3	"	Sp. febrilis	nicht sichtbar			
4	Kontrolle (nicht immunisiert)	Icterohaem.	1 in 1—2 Gf.	1 in 1—2 Gf.	starb (5 T.)	+
5	dgl.	Icteroides	1 in 2—3 Gf.	1 in 2—3 Gf.	starb (6 T.)	+
6	"	Sp. febrilis	1 in 5—6 Gf.	1 in 2—3 Gf.	gesund	
1	Icteroides	Icterohaem.	nicht sichtbar	nicht sichtbar	gesund	
2	"	Icteroides	vgl.	vgl.	starb (8 T.)	—
3	"	Sp. febrilis	"	"	gesund	
4	Kontrolle (nicht immunisiert)	Icterohaem.	1 in 2—3 Gf.	1 in 2—3 Gf.	starb (5 T.)	+
5	dgl.	Icteroides	1 in 2—3 Gf.	1 in mehreren Gf.	starb (5 T.)	+
6	"	Sp. febrilis	1 in 5—6 Gf.		gesund	
1	Sp. febrilis	Icterohaem.	nicht sichtbar	nicht sichtbar	starb (13 T.)	—
2	dgl.	"	1 in mehreren Dtz. v. Gf. 1 träg	1 in mehreren Dtz. von Gf. 1 träg	starb (8 T.)	+
3	"	Icteroides	1 in mehreren Dutzenden v. Gf. 1 lebhaft	nicht sichtbar	starb (4 T.)	—
4	"	Sp. febrilis	nicht sichtbar	nicht sichtbar	gesund	
5	Kontrolle (nicht immunisiert)	Icterohaem.	1 in 1—2 Gf.	1 in 1—2 Gf.	starb (4 T.)	+
6	dgl.	Icteroides	1 in 2—3 Gf.	1 in 2—3 Gf.	starb (5 T.)	+
7	"	Sp. febrilis	1 in 2—3 Gf.	1 in 2—3 Gf.	gesund	

2. Versuch.

(April—Juni 1927 ausgeführt.)

1	Icteroides	Icterohaem.	nicht sichtbar	nicht sichtbar	gesund	
2	"	"	1 in mehreren Dtz v. Gf. degeneriert	vgl.	"	
3	"	"	nicht sichtbar	"	starb (7 T.)	—
4	Sp. febrilis	"	dgl.	"	gesund	
5	dgl.	"	"	"	"	
6	Icterohaem.	"	"	"	"	
7	Kontrolle (nicht immunisiert)	"	1 in 2—3 Gf.	"	starb (10 T.)	+
8	dgl.	"	1 in 7—8 Gf.	"	starb (11 T.)	+
1	Icteroides	Icteroides	nicht sichtbar	nicht sichtbar	starb (3 T.)	—
2	"	"	vgl.	vgl.	gesund	
3	Sp. febrilis	"	"	"	"	
4	dgl.	"	"	"	"	
5	Icterohaem.	"	"	"	"	
6	"	"	"	"	"	
7	"	"	"	"	"	
8	Kontrolle	"	1 in 14—15 Gf.	1 in 5—6 Gf.	starb (4 T.)	—
9	"	"	1 in einigen Gf.	1 in einigen Gf.	starb (12 T.)	+
					starb (10 T.)	+

Tabelle VII (Fortsetzung).

Nr. d. Meer-schw.	Lept., welche zur Immunisierung gebraucht wurde	Lept. von neuem intra-peritoneal injiziert	Leptospirabefunde der Bauchpunktate		Ausgang der Tiere (Tage bis zum Tod)	Sektionsbefund
			nach 30 Min.	nach 2 Std.		
1	Icteroides	Sp. febrilis	1 in 14—15 Gf. bewegungslos	1 14—15 Gf. bewegungslos	gesund	
2	„	dgl.	1 in einigen Gf. bewegungslos	1 in einig. Gf. bewegungslos	„	
3	„	„	1 in einigen Gf. degeneriert	1 in 14—15 Gf. bewegungslos	starb (15 T.)	—
4	Icterohaem.	„	1 in 14—15 Gf. bewegungslos	1 in 14—15 Gf. bewegungslos	gesund	
5	„	„	1 in einigen Gf. bewegungslos	1 in einig. Gf. bewegungslos	„	
6	Sp. febrilis	„	nicht sichtbar	nicht sichtbar	„	
7	dgl.	„	dgl.	dgl.	„	
8	Kontrolle (nicht immunisiert)	„	1 in 3—4 Gf. lebhaft	1 in 3—4 Gf. lebhaft	„	
9	dgl.	„	1 in einigen Gf. lebhaft	1 in einig. Gf. lebhaft	starb (2 T.)	—

Anmerkung:

1. Körpergewicht von Meerschweinchen.

1. Versuch: 200 g bis 380 g.

2. Versuch: 350 g bis 500 g oder etwas darüber.

2. Immunisierungsmethode.

1. Versuch: Durch Hitze (37—60° C, 30 Min.) abgetötete Vakzine 1,0, 1,5 und 2,0 ccm und lebende Vakzine mit 5—6tägigem Intervall, beim Sp. febrilis nur mit lebender Vakzine.

2. Versuche mit Hitze (57—60° C, 30 Min.) abgetöteter Vakzine 1,0, 1,5, 3,0 und 50° C 5 Min. lang erhitzter Vakzine, 2 ccm mit 5—6tägigem Intervall.

Nach 2 Wochen wurden, wenn die erwartete Immunität eingetreten war, intraperitoneal die betreffenden Leptospira, bzw. 2 andere Leptospira-Stämme injiziert, auch wurde die durch Punktion entnommene Peritonealflüssigkeit und der weitere Verlauf bei dem Tiere untersucht.

Diese Kreuzversuche zeigten, daß die mit einem der 3 Leptospirenstämme aktiv immunisierten Tiere gegen die Infektion nicht nur durch homologe, sondern auch durch heterogene 2 Stämme immun sind.

Nur ausnahmsweise starb eins von 4 Tieren, die nach vorheriger Immunisierung mit Sp. febrilis mit Lept. icterohaemorrhagiae injiziert wurden, unter typischen Symptomen einige Tage später als das Kontrolltier. Auch sah man bei der Untersuchung der Bauchpunktate, daß bei den mit Lept. icterohaemorrhagiae oder icteroides immunisierten Tieren die von neuem injizierten Leptospiren fast schattenlos schon 30 Min. danach aufgelöst waren, während bei den mit Sp. febrilis immunisierten Tieren die von neuem injizierten Lept. icterohaemorrhagiae oder icteroides noch nach 2 Std. sichtbar waren, wogegen die sichtbaren Leptospiren der Bauchpunktate fast bewegungslos waren und mäßig beeinflußt zu sein schienen. Die Tiere blieben gesund, wie andere, die mit Lept. icterohaemorrhagiae oder icteroides immunisiert waren (Tab. VII, S. 90).

Zusammenfassung.

1) Die Lept. hebdomadis, welche von Ido und seinen Mitarbeitern aus „Nanukayami“-Kranken isoliert und immunologisch von Lept. icterohaemorrhagiae differenziert war (Ido, Kaneko, Oba, Battistini), betrachtete

ich mit Koshina und Kitayama als Typus B in der „Studies of Lept. hebdomadis“ und bewies, daß es sich um eine immunologisch selbständige *Leptospira* handelte. In meinem diesmaligen Versuche konnte ich diese Tatsache wieder bestätigen. — 2) Die *Lept. hebdomadis* Typus A, welche ich mit Koshina und Kitayama aus „Akiyami“-Kranken zuerst isoliert und immunologisch von *Lept. icterohaemorrhagiae* und vom *hebdomadis* Typus B unterschieden hatte, konnte ich auch in diesem Experimente wieder feststellen. — 3) *Lept. icteroides*: Ueberblickt man die Literatur, so ergibt sich, daß Noguchi und seine Mitarbeiter in ihren eingehenden Arbeiten die *Lept. icteroides* immunologisch ganz sicher von *Lept. icterohaemorrhagiae* unterschieden haben. Demgegenüber wollte Vieira die Bedeutung dieser *Leptospira* als Erreger des gelben Fiebers absprechen, wohl weil die Pfeiffersche Reaktion mit Rekonvaleszenten-seren von Gelbfieberpatienten und *Lept. icteroides* immer negativ ausgefallen ist. — Aus meinen obigen Versuchen geht aber hervor, daß der Unterschied zwischen der *Lept. icterohaemorrhagiae* und *icteroides* in bezug auf ihr immunologisches Verhalten sich so verhält, wie zwischen den verschiedenen Stämmen der *Leptospira icterohaemorrhagiae*. — 4) *Sp. febrilis*: Nach Vervoort und Kouvenaar soll die Zugehörigkeit von *Sp. febrilis* noch nicht festgestellt sein. Meine Versuche bringen sie aber in nahe Verwandtschaft mit der *Lept. icterohaemorrhagiae*. — 5) Die Wasser-*Leptospira* Erlangen und Tokyo will ich in einer anderen Abhandlung eingehend beschreiben. Diese 2 saprophytischen Stämme verhalten sich serologisch untereinander als den übrigen pathogenen Stämmen gegenüber ganz verschieden.

Bemerkung: Die Ergebnisse dieser Arbeit wurden im April 1926 auf der Sitzung der Bakteriologischen Abteilung der Japanischen Med. Gesellschaft vorgetragen; ich habe hier nur einige Tatsachen neu hinzugefügt. Nach Abschluß dieser Arbeit erhielt ich neuerdings einige amerikanische und europäische Literatur über die *Lept. icteroides*, nämlich 1) Theiller und Sellards (Amer. Journ. Trop. Med. Vol. 6. 1926. p. 386), die behaupten, daß die *Lept. icterohaemorrhagiae* und *icteroides* durch Autoimmunisierungsversuche nicht zu unterscheiden sind. — 2) Sellards (Amer. Journ. Trop. Med. Vol. 8. 1927. p. 71). — 3) Schöffner und Mochter (Arch. f. Schiffs- und Trop.-Hyg. Bd. 31. 1927. S. 149), Puntoni (Compt. rend. Soc. Biol. T. 96. 1927. p. 1139) gelangten zu gleichem Resultat durch die Pfeiffersche Reaktion und Autoimmunisierung usw.

Diese neuen ausländischen Arbeiten über *Lept. icteroides* stimmen mit den meinigen überein.

Literatur.

- 1) Battistini, Journ. Trop. Med. and Hyg. Vol. 28. 1925. p. 201. — 2) Huebener u. Reiter, Ztschr. f. Hyg. Bd. 81. 1916. S. 171. — 3) Dies., Dtsch. med. Wochenschr. 1915 S. 1275; 1916. S. 1, 131. — 4) Inada, Ido, Hoki, Kaneko u. Ito, Nissin-Igaku. 1915. — 5) Dies., Journ. Exp. Med. Vol. 23. 1916. p. 377. — 6) Inada, Ido, Hoki, Ito a. Wani, Ebenda, Vol. 28. 1918. p. 283. — 7) Ido, Ito u. Wani, Nippon Naikagakukai Zasshi. 1917. — 8) Dies., Journ. Exp. Med. Vol. 28. 1918. p. 435. — 9) Kaneko u. Morihara, Ztschr. f. Immunitätsf. u. exp. Therap. Bd. 31. 1921. S. 201. — 10) Koshina, Shiozawa a. Kitayama, Tokyo Igakukai Zasshi. 1923 u. 1924. — 11) Dies., Journ. Exp. Med. Vol. 42. 1925. p. 873. — 12) Kitamura u. Hara, Tokyo Ijishinshi. 1918. — 13) Noguchi, Journ. Exp. Med. Vol. 27. 1918. p. 575, 593, 609; Vol. 29. 1919. p. 547. 565. 585; Vol. 30. p. 1, 9, 13. 87. 95. 401; Vol. 31. 1920. p. 135. 159; Vol. 32. p. 381. — 15) Kouvenaar, Abstract of Scient. Paper. 6. F. E. A. T. M. Append. 1. — 16) Noguchia a. Kligler, Journ. Exp. Med. Vol. 32. 1920. p. 607. 627; Vol. 33. 1921. p. 239. 253. — 17) Noguchi, Muller, Torres, Silva, Martina, Santos, Vianna a. Biao, J. A. M. A. Vol. 83. 1924. p. 821. — 18) Oba, Eiseigaku-Densenhyogaku Zasshi. 1921.

— 19) Oba, Katayama u. Sumi, Ebenda. 1922. — 20) Uhlenhuth u. Fromme, Med. Klin. 1915. S. 1202. 1264. — 21) Dies., Berl. klin. Wochenschr. 1916. S. 269. — 22) Dies., Ztschr. f. Immunitätsf. u. exp. Ther. Bd. 25. 1916. S. 317; Bd. 28. 1919. S. 51. — 23) Shiga, Ztschr. f. Immunitätsf. u. exp. Ther. Bd. 40. 1924. S. 148. — 24) Vervoort, Geneesk. Tijdschr. v. Nederl. Indië. Afl. 6. Deel 62. (Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 76. 1924. S. 64.) — 25) Vieira, Bolet. Soc. de Med. e Cirurgia de S. Paulo (Brasil). Vol. 4. 1921. p. 137. (Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 74. 1923. S. 405).

Nachdruck verboten.

Ueber das Verhalten der Phagozytose immunogener Substanzen zu der durch sie herbeigeführten Immunität, unter besonderer Berücksichtigung des Koktoimmunogens, sowie über die immunologische Trias.

[Aus dem Laboratorium d. Kais. chirur. Universitätsklinik, Kyoto (Prof. Dr. R. Torikata).]

Von Dr. S. Fujitsuna.

Einleitung.

Seit Metschnikoff wissen wir, daß die Phagozyten nicht nur bei Entzündungen, sondern auch bei der Gewinnung der Immunität eine große Rolle spielen. Im folgenden soll experimentell geprüft werden, ob sich die Erwerbung der aktiven Immunität nach dem Grade der Phagozytose richtet.

Testmaterialien.

1) Natives Zentrifugat (NZ) einer Cholera vibrienvakzine, die zum Zwecke der prophylaktischen Injektion vom Kais. Seruminstitut in Tokio erhältlich ist.

2) Gekochtes Zentrifugat (ZK). Das obige (native) Zentrifugat, welches makroskopisch wasserklar aussah, wurde in einem siedenden Wasserbade von 100° C 20 Min. lang gehalten. Dabei entstand weder Trübung noch Niederschlag.

3) Kochsalzaufschwemmung von Staphylokokken. Von einer 24stünd. Agarkultur wurden die Kokken durch 0,85proz. Kochsalzlösung emulgiert. Diese Aufschwemmung wurde im Wasserbade bei 60° C 1 Std. lang erhitzt und sterilisiert. 1,0 ccm Medium enthielt ca. 0,0035 ccm Kokkenleiber. Alle Testmaterialien enthielten 0,5proz. Karbolsäure.

Versuchsanordnung.

Meerschweinchen (Männchen) mit ca. 600 g Körpergewicht wurden zu je 2 in mehrere Gruppen geteilt. Eine 1. Gruppe erhielt NZ, eine 2. ZK und eine 3. karbolisierte 0,85proz. Kochsalzlösung intraperitoneal eingespritzt. Nach ½ Std. wurde sämtlichen Versuchstieren eine bestimmte Menge der oben erwähnten Staphylokokkenaufschwemmung intravenös einverleibt und dann in der 30., 60., 120., 240., 360. und 480. Min. je eine Blutprobe zur Verfolgung der sich im Blutkreislaufe abspielenden Phagozytose (der Staphylokokken) und Hyperleukozytose entnommen.

Andrerseits wurde den Versuchstieren am 5., 10. und 15. Tage nach Einverleibung der Testmaterialien je eine Blutprobe mittels Herzpunktion entnommen, um die Verschiebung des Agglutinititers beim Serum für Cholera vibrienvakzine bzw. Staphylokokken zu verfolgen.

Den andern Tiergruppen haben wir eine Mischung von Staphylokokkenaufschwemmung und NZ, ZK bzw. NaCl-Lösung zur Kontrolle intravenös eingespritzt und sind im übrigen genau so verfahren, wie oben angegeben.

Die Untersuchung der Phagozytose und Hyperleukozytose geschah nach der bereits von H. Suguro¹⁾ gemachten Angabe.

1) Ztschr. f. Immunitätsf. Bd. 42. 1925. sowie Bd. 46. 1926.

Versuch I.

Ueber den Grad der Phagozytose und Hyperleukozytose.

Die Versuchsergebnisse sind in Tab. I angegeben. Dabei stellen die Zahlen die Mittelwerte der Ergebnisse von 2 Tieren, die je eine Gruppe bilden, dar.

Tabelle I.

Tiere erhielten 1,0 cem Staphylo- kokkenauf- schwemmung, kombiniert mit	Menge ccm	Gesamte weiße Zellen in 6 cmm	Prozent- zahl der neu- trophilen Leuko- zyten	Befund der Phagozytose			
				Fres. Z.	Gefr. Kok.	Phago- zytat	Koeffi- zient der Phago- zytose
NZ	0,5	70 200	223,0	45,0	100,0	165,0	2,1
ZK	„	94 700	221,5	70,0	205,5	275,0	3,0
NaCl-Lösung	„	118 200	150,8	22,0	44,5	66,5	0,6
NZ	1,0	80 900	199,0	47,5	97,0	144,5	1,8
ZK	„	52 800	182,8	45,5	106,0	151,5	2,9
NaCl-Lösung	„	141 900	162,0	24,5	54,0	78,5	0,6

Fres. Z. = Zahl der Phagozyten, die Staphylokokken im Protoplasma aufgenommen haben.

Gefr. Kok. = Zahl der phagozytierten Kokkenleiber.

Phagozytat = Fres. Z. + gefr. Kok.

Die Zahlen stellen die Summe der Ergebnisse in der 30., 60., 120., 240., 360., und 480. Minute dar.

Befund.

1) Die Phagozytose der Kokken, die sich im Phagozytat dokumentiert, war am größten (275,0) beim gekochten Zentrifugat der Cholera-vakzine (ZK) in der Menge von 0,5 ccm. Man kann daher annehmen, daß das gekochte Zentrifugat in der Menge von 0,5 ccm die größte Immunität gegen Staphylokokken herbeiführen muß, wenn sich die Gewinnung der Immunität nach dem Grade der Phagozytose (der immunogenen Substanzen) richtet.

2) Durch Erhöhung der Gebrauchsdosis von 0,5 ccm auf 1,0 ccm wurde der Phagozytatwert beträchtlich verkleinert, und zwar von 275,0 bis auf 151,5. Daher läßt sich vermuten, daß die Gewinnung der Immunität gegen Staphylokokken bei Gegenwart von 1,0 ccm ZK eine kleinere sein muß als bei der von 0,5 ccm ZK.

3) Die größte Zahl der weißen Zellen im Blute betrug 118 200 bzw. 141 900, bezog sich also auf die Versuchsgruppen, welche nur die Staphylokokken-aufschwemmung und Kochsalzlösung erhalten hatten. Die beiden Gruppen wiesen jedoch die kleinste Phagozytose mit dem Phagozytatwert von 66,5 bzw. 78,5 auf, während die Kombination dieser Staphylokokken-aufschwemmung mit NZ bzw. ZK ungeachtet einer kleineren Anzahl der weißen Zellen im Blute doch eine beträchtlich größere Phagozytose, und zwar mit dem Phagozytatwerte von 145,0 bzw. 275,5 verursachte. Diese Feststellungen lehren uns: 1) Die Hyperleukozytose geht nicht immer mit der Phagozytose Hand in Hand, ist also kein richtiger Indikator für letztere. 2) In Gegenwart irgendeiner gelösten mikrobiotischen Substanz werden die Mikrobenleiber energischer phagozytiert als ohne dieselbe, und zwar fördern dabei **gekochte** mikrobiotische Gifte die Phagozytose viel stärker als die **nativen**. 3) Daraus ergibt sich als Schlußfolgerung, daß die Mikrobenleiber umso weniger phagozytiert werden müssen, je mehr das Medium, in welchem die Erregerleiber suspendiert sind, von gelösten mikrobiotischen Substanzen, seien sie homologe oder heterologe, befreit ist,

was bereits von Hajime Ito, K. Inokutchi und S. Fujitsuna nachgewiesen ist. 4) Daraus geht weiter hervor, daß **Mikrobenleiber allein ohne die in demselben Medium (NaCl-Lösung bzw. Gewebsflüssigkeit) aufgelösten Mikrobensubstanzen nicht imstande sind, immunogen zu wirken.**

Versuch II.
Ueber den Agglutinintiter des Blutserums bei den Tiergruppen des Versuches I.

Die Ergebnisse sind in Tabelle II zusammengestellt.

Tabelle II.

Tiere erhielten 1,0 ccm Staphylokokken- aufschwemmung, kombiniert mit	Menge ccm	Titer des Agglutinins im Serum gegen			
		Staphylokokken		Cholera vibrien	
		größter	kleinster	größter	kleinster
NZ	0,5	500	80	40	20
ZK	"	800	140	80	60
NaCl-Lösung	"	240	50	20	10
NZ	1,0	440	80	50	20
ZK	"	600	200	140	50
NaCl-Lösung	"	240	140	20	0

Um das Verhalten der Phagozytose zu der Gewinnung der Immunität, die sich hier im Agglutinintiter dokumentiert, einer genauen Betrachtung unterziehen zu können, haben wir die wichtigen Befunde in einer Tabelle nebeneinandergestellt (vgl. Tab. III).

Tabelle III.

Tiere erhielten 1,0 ccm Staphylo- kokken- aufschwemmung, kombiniert mit	Menge ccm	Grad per Phagozytose der Staphylo- kokken (Phagozytat)	Reihenfolge	Titer des Agglutinins gegen					
				Staphylokokken		Reihenf.	Cholera vibrien		Reihenf.
				größter Wert	Durch- schnitts- wert		größter Wert	Durch- schnitts- wert	
NZ	0,5	145,0	III	500	293	III	40	33	IV
ZK	"	275,0	I	800	447	I	80	53	II
NaCl-Lösung	"	66,5	VI	240	160	VI	20	13	V
NZ	1,0	144,5	IV	440	240	IV	50	33	III
ZK	"	151,5	II	600	400	II	140	103	I
NaCl-Lösung	"	78,5	V	240	173	V	30	7	VI

Befund.

- 1) Der Grad der Erzeugung des Agglutinins gegen Staphylokokken im Bluterichtete sich genau nach dem Grade der Phagozytose der Staphylokokken im Blute. Bei Tab. III konstatierten wir exakte Uebereinstimmung der Reihenfolge des Grades beider Phänomene: Phagozytose einerseits und Agglutininbildung andererseits
- 2) Diese Feststellung lehrt uns, daß der Prozeß der Phagozytose der immunogenen Substanzen für die Erwerbung der aktiven Immunität maßgebend ist, oder daß die Fähigkeit der immunogenen Materialien, wirklich als Immunogene zu funktionieren, in erster Linie nach ihrer Phagozytierbarkeit

beurteilt werden kann, oder mit andern Worten: daß die immunogene Avidität der immunogenen Materialien vor allem durch den Grad ihrer Phagozytose bzw. durch den Grad ihrer die Phagozytose fördernden Fähigkeit ausgedrückt werden kann.

3) Unter Mitwirkung von ZK, dem gekochten Zentrifugat einer Cholera-vakzine, wurden die Staphylokokken in einer beträchtlich größeren Menge phagozytiert und dementsprechend auch ein größerer Titer des homologen Agglutinins herbeigeführt als unter der von NZ, dem nativen Zentrifugate derselben Vakzine. Daraus geht eindeutig hervor, daß ZK gegenüber NZ eine größere antigene (immunogene) Avidität zukommt.

4) Die Erzeugung des Agglutinins gegen Choleravibrionen erfolgte am stärksten bei ZK in der Menge von 1,0 ccm. Die Stärke der Agglutininbildung ließ sich dabei folgendermaßen graduieren: 1,0 ccm ZK > 0,5 ccm ZK > 1,0 ccm NZ > 0,5 ccm NZ. Der Prozeß der Phagozytose der Staphylokokken wurde dabei von 66,5 bis 275 gesteigert durch 0,5 ccm von **ZK** und nur bis 145 durch 0,5 ccm von **NZ**. Daraus ersieht man, daß die Fähigkeit gelöster mikrobiotischer Substanzen, die Phagozytose der Mikrobenleiber zu fördern, mit ihrer immunogenen Avidität Hand in Hand geht.

5) Die Erhöhung der Menge von NZ und ZK von 0,5 ccm auf 1,0 ccm setzte den Grad der Phagozytose (der Staphylokokken) und dementsprechend auch die Bildung des Agglutinins herab. Daß ein Ueberschuß antigener Substanzen alle serologischen Phänomenen in vitro und in vivo unterdrückt, ist schon längst bekannt (vgl. z. B. Torikata, Koktopräzipitinogene und Koktoimmunogene, Bern, 1917, S. 56, 106, 114, 127, 264 usw. sowie H. Suguro, Ztschr. f. Immunitätsf. u. exp. Therapie. Bd. 46. 1926. S. 419).

6) Die Erhöhung der Menge des NZ und ZK von 0,5 ccm auf 1,0 ccm bedingte dagegen eine Steigerung der Erzeugung des gegen Choleravibrionen gerichteten Agglutinins. Daher ist anzunehmen, daß die Erhöhung der Menge des NZ und ZK von 0,5 ccm auf 1,0 ccm die Phagozytose eben derselben antigenen Materialien, NZ und ZK, auch steigerte, obwohl wegen der Farblosigkeit des in der Gewebsflüssigkeit gelösten NZ bzw. ZK es unmöglich ist, einen direkten Nachweis dafür zu erbringen. Daraus geht auch hervor, daß die Phagozytose der Mikrobenleiber (Staphylokokken) im Blutkreislaufe wohl im großen ganzen jedoch nicht immer ganz präzise diejenige der im Blute koexistierenden flüssigen immunogenen Materialien, wie z. B. die von NZ bzw. ZK, indiziert.

7) Es ist bekannt, daß bei der bloßen Einverleibung von **NZ** einerseits und **ZK** andererseits in der gleichen Menge (z. B. je 0,5 ccm oder 1,0 ccm) die NZ-Tiere immer eine größere Immunität aufweisen als die ZK-Tiere. Sobald die Immunogene NZ und ZK mit einer bestimmten Menge einer beliebigen Vakzine, also in unserem Falle mit je 1,0 ccm der Standardaufschwemmung von Staphylokokken kombiniert wurden, ergab sich bei den ZK-Tieren eine beträchtlich größere Immunität — sie ließ sich hier an der Erzeugung des gegen Choleravibrionen gerichteten Agglutinins erkennen — als bei den NZ-Tieren.

8) Die obige Feststellung lehrt uns, daß die immunisatorischen Erfolge mindestens von 2 Faktoren der immunogenen Materialien, **Toxizität** einerseits und **immunisatorischer Avidität** andererseits, abhängig sind und daher zur Beurteilung der immunogenen Avidität immunogener Materialien vor allem die Bedingung erfüllt werden muß, daß sie dieselbe Toxizität oder wenigstens keinen großen Unterschied in derselben auf die Organismen, welche durch sie immunisiert werden sollen, ausüben. Daß 0,5 ccm resp. 1,0 ccm des nativen Zentrifugats (NZ) einerseits und des gekochten Zentrifugats (ZK) andererseits durch die Kombination mit überall 1,0 ccm der Standardaufschwemmung

von Staphylokokken bei den Versuchstieren keinen so großen Unterschied in der Toxizität ergab, daß die Erzeugung der Immunität auch dadurch beeinflußt wurde, sondern sich als ziemlich gleich giftig erwies, geht aus dem Befunde der Hyperleukozytose resp. dem der Prozentzahlen der neutrophilen Leukozyten im Blute deutlich hervor (Tab. I). Durch die Kombination einer bestimmten Menge Vakzine, die bedeutend giftiger ist als NZ bzw. ZK, scheint der Unterschied in der Toxizität zwischen dem nativen und gekochten Zentrifugate der Choleravibrionenvakzine, NZ und ZK, so gering zu werden, daß er sich bei der Erwerbung der Immunität der Versuchstiere nicht mehr geltend macht, so daß die dabei erzielten immunisatorischen Erfolge nur auf ihre immunisatorischen Aviditäten, d. h. auf die Mengen der wirklich als Immunogen funktionierenden Substanzen zurückgeführt werden können.

9) Somit ist uns tatsächlich der experimentelle Nachweis gelungen, daß das **gekochte** Zentrifugat (ZK) eine beträchtlich größere immunogene resp. antigene Avidität als das **native** (NZ) besitzt. Ein solcher Befund dürfte sich nur durch die Impedintheorie Torikatas¹⁾ erklären lassen.

Zusammenfassung.

1) Meerschweinchen, denen 0,5 und 1,0 ccm des nativen bzw. gekochten Zentrifugats einer Bouillonkultur von Choleravibrionen, kombiniert mit 1,0 ccm einer Standardaufschwemmung abgetöteter Staphylokokken einverleibt wurde, ergaben eine größere Phagozytose der Kokken und dementsprechend auch eine größere Erzeugung sowohl des Antistaphylokokkenagglutinins als auch des Anticholeravibrionenagglutinins im zirkulierenden Blute. Dabei wiesen die NF-Tiere doch eine etwas hochgradigere Leukopenie sowie etwas größere Zunahme der Prozentzahlen der neutrophilen Leukozyten als die ZK-Tiere auf. Dies zeigt uns, daß die Toxizität von NF + Kokkenaufschwemmung zwar nicht das Verhalten der Erzeugung der Immunität änderte, doch eine etwas größere als die von ZK + Kokkenaufschwemmung war. — 2) Einer größeren Phagozytose der immunogenen Materialien (Staphylokokken) folgte eine größere Erzeugung der dagegen gerichteten aktiven Immunität. — 3) Die Fähigkeit der gelösten Substanzen (NZ bzw. ZK) der Mikroben (Choleravibrionen), die Phagozytose der Mikrobenleiber (Staphylokokken) zu fördern, ging mit derjenigen, die gegen die ersteren Mikroben (Choleravibrionen) gerichtete aktive Immunität herbeizuführen, quantitativ Hand in Hand, mit andern Worten: bei einer gelösten Mikrobensubstanz konnten ihre die Phagozytose fördernde Eigenschaft einerseits und ihre immunogene Avidität andererseits als identisch betrachtet werden. — 4) Mikroben wurden unter Mitwirkung von NZ resp. ZK in einer größeren Masse phagozytiert als ohne die solcher Substanzen. Unter den Zentrifugaten, NZ und ZK, förderte letzteres die Phagozytose bedeutend mehr als ersteres. — 5) Mikroben können erst dann als Immunogene vom Organismus (Phagozyten) verwertet werden, wenn im Medium, in welchem sie sich befinden, gelöste mikrobiotische Substanzen enthalten sind. Mikroben allein, ohne gelöste mikrobiotische Substanzen, kommen kaum dafür in Betracht, in vivo als **Immunogene**

1) Brauers Beitr. z. Klin. d. Tuberkul. Bd. 68. 1928. S. 323 ff.
Erste Abt. Orig. Bd. 109.

zu wirken, weil sie dann sehr schlecht phagozytiert werden. — 6) Die Hauptbedingung für die Erwerbung der Immunität ist die, daß die immunogenen Substanzen in erster Linie phagozytiert werden. Ohne Phagozytose keine Erzeugung der Immunität. — 7) Je größer (kleiner) die Phagozytose, desto größer (kleiner) die Erzeugung der Immunität und desto kleiner (größer) die Nebenwirkung jedes mikrobiotischen immunogenen Materials; wir wollen dies mit R. Torikata als „immunologische Trias“ bezeichnen.

Nachdruck verboten.

Verbesserungen am Bunsen-Brenner für den Gebrauch in bakteriologischen Laboratorien.

[Aus dem Städtischen Hygienischen Universitäts-Institut Frankfurt a. M.]

Von Dr. **R. Kopp**, früherem Assistenten des Instituts.

Mit 1 Abbildung im Text.

Der in bakteriologischen Laboratorien gebräuchliche Bunsen-Brenner mit Sparflamme hat zwei Nachteile, deren Verbesserung mir Herr Geheimrat M. Neisser auftrag. Einmal gibt die Sparflamme immer wieder Veranlassung zum Anbrennen von Laboratoriumsmänteln u. dgl., weil sie nicht genügend sichtbar ist und weil beim Ergreifen eines weiter wegstehenden Gegenstandes der über der Sparflamme befindliche Aermel sehr leicht Feuer fängt, weil ferner dann besonders unangenehme Entzündung stattfindet, wenn man rückwärts am Laboratoriumstisch steht und sich etwas weit zurückneigt. Der zweite Nachteil zeigt sich hauptsächlich im Kurse: es gelingt den Kursteilnehmern nicht, wie den Geübten, die Flamme jedesmal nach Gebrauch wieder abzdrehen und auf Sparflamme zu stellen. So brennen dann sehr viele Flammen während der Kursstunden völlig nutzlos und zum Nachteil der Raumluft.

Beiden Nachteilen hilft folgende Anordnung ab: die Einschaltung der großen Flamme erfolgt durch Fußtritt mittels Pedal, während die Drosselung zur Sparflamme durch Federzug selbsttätig erfolgt, wenn der Druck auf das Pedal aufhört. Die Anordnung ist aber derart, daß durch den Pedalzug die ganze Lage des Brennerrohres verändert wird, indem sie aus der ursprünglich schrägen Lage in die nötige senkrechte Lage gebracht wird, wobei gleichzeitig die Feder angespannt wird, welche beim Nachlassen des Pedalzuges das Brennerrohr wieder in die schräge Ruhelage zurückbringt. Bei der Bewegung von der schrägen in die senkrechte Lage öffnet sich der Hahn für das Brennerrohr, bei der Rückwärtsbewegung in die schräge Ruhelage schließt sich die Gaszufuhr, und es bleibt nur die Sparflamme brennen. Durch diese verschiedene Lage in der Ruhe und im Gebrauch hat es sich auch sehr einfach ermöglichen lassen, über der Sparflamme in der schrägen Ruhelage ein kleines Metalledach anzubringen, welches genügt, um die erwähnten Brände zu verhüten. Die Gasverschwendung aber steht nicht mehr im Belieben des Einzelnen, weil sie ja aufhört, wenn der Pedalzug nicht mehr besteht. Es ist allerdings ein kleiner Sperrhaken vorgesehen, welcher es ermöglicht, den Brenner in der senkrechten „Arbeitslage“ zu fixieren; das ist für manche Zwecke, wie Wasserbaderhitzung u. dgl. vorteilhaft. Im Kurs wird natürlich die Handhabung dieses Sperrhakens nicht gestattet. Die ganze Apparatur ist auf einem kleinen Brettchen

montiert, das auf der Tischplatte befestigt wird. Eine Durchbohrung der Tischplatte läßt eine Schnur zum Pedal passieren, das Pedal selbst braucht nicht am Fußboden befestigt zu werden und erlaubt eine gewisse Bewegungs-

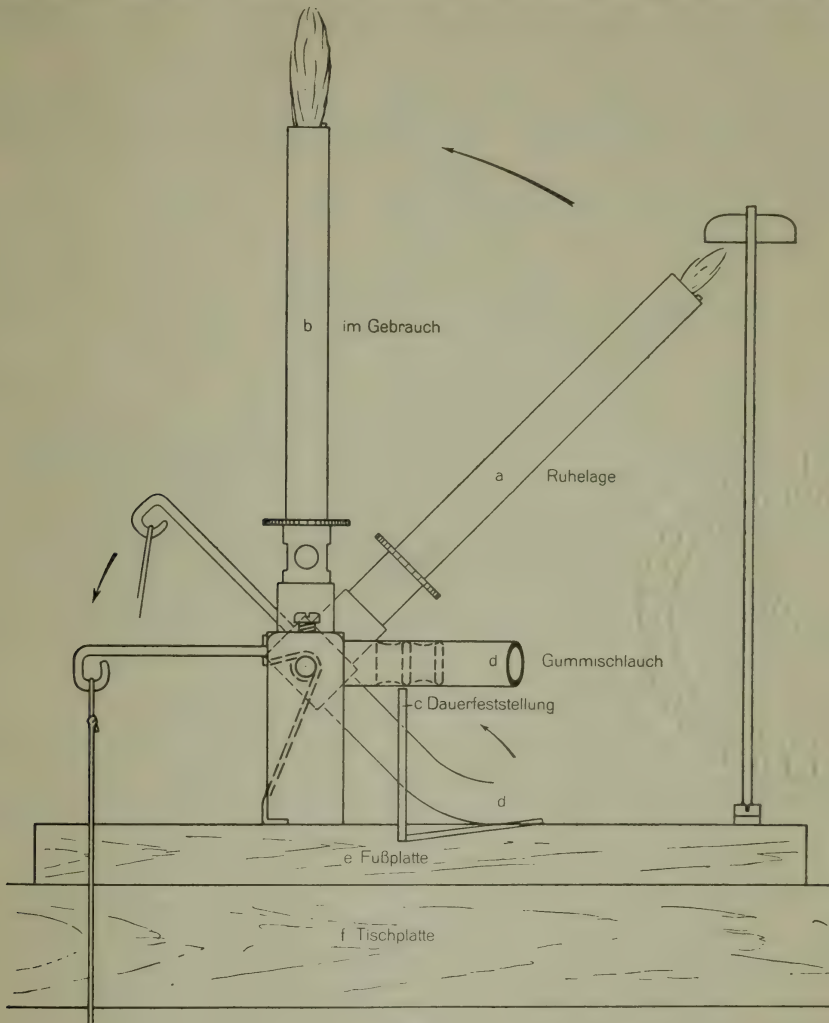


Fig. 1.

freiheit. Jeder Bunsen-Brenner, dessen runder Fuß abschraubbar ist und der mit üblicher Sparflamme versehen ist, läßt sich leicht umändern. Die Vorrichtung ist zum Gebrauchsmuster angemeldet.

Die Skizze veranschaulicht den Mechanismus.

Nachdruck verboten.

Ueber die Rolle der Lipoiden der Mikroben bei ihrer Phagozytose im Blutkreislaufe der Versuchstiere.

II. Mitteilung: Einfluß gleichnamiger bzw. ungleichnamiger Lipoiden auf die Phagozytose der Staphylokokken im zirkulierenden Blute.

[Aus dem chirurgischen Laboratorium der Kais. Universität Kyoto (Prof. R. Torikata).]

Von Dr. Y. Ischimoto.

Mit 6 Kurven im Text.

Einleitung.

Wir hatten bereits den Nachweis erbracht, daß Mikrobenleiber (*Staphylococcus pyogenes aureus*) durch Entfettung ihre Phagozytierbarkeit beträchtlich einbüßen, und zwar, auch wenn sie in die Blutbahn eines dagegen spezifisch immunisierten Individuums eingeführt werden¹⁾. Daraus ersehen wir, daß die im Mikrobenleib a priori vorhandenen Lipoiden für den Phagozytose-Prozeß, ob spontan oder induziert, unentbehrlich sind. Im folgenden wollen wir nun weiter prüfen, wie sich die Phagozytose normaler Mikrobenleiber zu den von außen zugesetzten homologen bzw. heterologen Lipoiden verhält.

Testmaterialien und Versuchsanordnung.

1) Originale Aufschwemmung von Staphylokokken (Orig.) *Staphylococcus pyogenes aureus* wurde von einer 24stünd. Agaroberfläche mit 0,85proz. NaCl-Lösung suspendiert und durch Erhitzung bei 60° C während einer ½ Std. sterilisiert. 0,5 ccm dieser Aufschwemmung enthielt, volumetrisch gemessen, ca. 0,0035 ccm Kokkenleiber.

2) Mischung der originalen Staphylokokkenaufschwemmung mit einer Suspension von gleichnamigen Lipoiden (Orig. + Hml-Lp). Ein Teil der oben erwähnten Staphylokokkenaufschwemmung wurde mit gleichem Teile Aether (Merck) in einem Schüttelapparat während 5 Min. geschüttelt. Der ausgeschiedene Aether wurde durch Erwärmung in einem Wasserbade bei 40° C ausgetrieben. Die auf diese Weise erhaltene schmierige Substanz wurde in Alkohol aufgelöst und dann durch Zusatz von 0,85proz. NaCl-Lösung zu 10 Proz. verdünnt. Die so vorbereitete Suspension der Lipoiden von Staphylokokken wurde zu gleichen Teilen mit der Originalaufschwemmung von Staphylokokken vermischt. 1,0 ccm dieser Vermischung enthält also ca. 0,0035 ccm Staphylokokkenleiber. Dabei ist darauf hinzuweisen, daß die auf die oben beschriebene Weise erhaltenen Lipoiden keine reinen Lipoiden, sondern mehr oder weniger mit den mikrobiotischen Proteinstoffen verunreinigt sind.

3) Mischung der originalen Staphylokokkenaufschwemmung mit einer Suspension von ungleichnamigen Lipoiden (Orig + Htrl-Lp). Als heterologe mikrobiotische Lipoiden zogen wir unter sonst gleichen Bedingungen diejenigen von Coli-Bakterien heran.

1) Ischimoto, Y., Dieses Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. 101. 1927. S. 425.

Versuch I.

Durchschnittliche Ergebnisse von 3 normalen Meerschweinchen über die Phagozytose von Orig bzw. Orig + Hml-Lp in ihrem Blutkreislaufe.

Die Versuchsergebnisse sind in den Tabellen I und II zusammengestellt und noch in Abbildungen 1 und 2 graphisch dargestellt.

Tabelle I.

Untersuchung	Ges. W.	Unter 200 weißen Zellen				
		fres. Z.	gefres. Kok.	Phago-zytat	Neutrophile Zellen	
					fres. Z.	gefres. Kok.
In der Norm	14300	0	0	0	0	0
Intravenöse Injektion einer Aufschwemmung von abgetöteten Staphylokokken (Orig), in der Menge von 0,5 ccm = ca. 0,0035 ccm Kokkenleiber.						
Zeit nach Ein-	15 Min.	1700	19,7	102,6	122,3	15,7
verleibung	30 "	15900	11,3	40,0	51,3	10,0
von Kokken	60 "	8200	11,0	58,7	69,7	9,3
bis zur Blut-	120 "	16500	10,7	50,7	61,4	9,7
untersuchung	240 "	16800	8,3	39,3	47,6	8,0
	480 "	10100	9,7	29,4	36,1	8,7
Summe	98800	70,4	320,7	391,4	61,4	280
Phagozytosekoeffizient = Phagozytat / Ges. W. = 4,0.						

Tabelle II.

Untersuchung	Ges. W.	Unter 200 weißen Zellen				
		fres. Z.	gefres. Kok.	Phago-zytat	Neutrophile Zellen	
					fres. Z.	gefres. Kok.
In der Norm	9600	0	0	0	0	0
Injektion von (Orig + Hml-Lp) ceteris paribus.						
Zeit nach Ein-	15 Min.	14700	27,4	133,4	160,8	23,0
verleibung	30 "	14600	21,3	124,7	146,0	18,3
von Kokken	60 "	9600	20,0	97,3	117,3	16,3
bis zur Blut-	120 "	15100	24,0	122,0	146,0	22,0
untersuchung	240 "	14800	15,7	70,7	86,4	14,7
	480 "	9500	11,3	52,0	63,3	11,0
Summe	88800	119,7	600,1	719,8	105,3	534,8
Phagozytosekoeffizient = 8,1.						

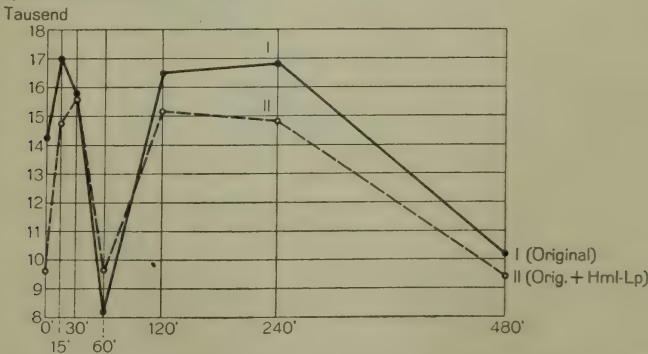


Fig. 1. Die Schwankung der Anzahl der gesamten weißen Zellen im Blute normaler Meerschweinchen, die I. Orig II. Orig + Hml-Lp } intravenös erhalten hatten.

Tabelle IV. (Orig + Htrl-Lp).

Untersuchung	Ges. W.	Unter 200 weißen Zellen				
		fres. Z.	gefres. Kok.	Phago-zytat	Neutrophile Zellen	
					fres. Z.	gefres. Kok.
In der Norm	11 400	0	0	0	0	0
Intravenöse Injektion von (Orig + Htrl-Lp) ceteris paribus.						
Zeit nach Ein- verleibung von Kokken bis zur Blut- untersuchung	15 Min.	16 600	19,6	110,7	130,3	15,3
	30 "	15 800	19,6	97,3	116,9	16,3
	60 "	17 100	11,3	65,7	77,0	9,3
	120 "	17 800	12,6	54,7	67,3	11,3
	240 "	15 800	12,6	40,1	52,7	10,3
	480 "	11 700	7,7	25,3	33,0	6,7
Summe	106 200	73,4	393,8	467,2	59,2	323,7

Phagozytosekoeffizient = 4,4.

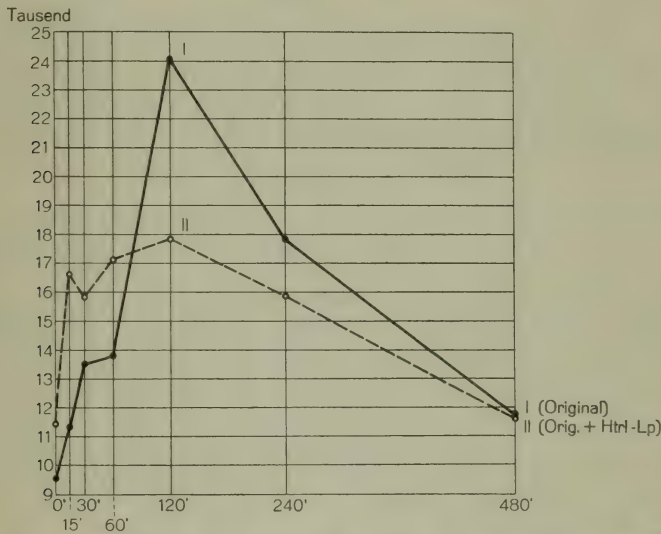


Fig. 3. Die Schwankung der Anzahl der gesamten weißen Zellen im Blute normaler Meerschweinchen, die

I. Orig
II. Orig + Htrl-Lp } intravenös erhalten hatten.

Ergebnis.

- 1) Die (Orig+Htrl-Lp)-Tiere ergaben gegenüber den (Orig)-Tieren eine geringere Schwankung der Leukozytenzahl im Blute (Fig. 3).
- 2) Das Phagozytat betrug 368,5 bei (Orig)-Tieren und 467,2 bei (Orig+Htrl-Lp)-Tieren.
- 3) Der Phagozytosekoeffizient betrug 3,6 bei (Orig)-Tieren und 4,4 bei (Orig+Htrl-Lp)-Tieren.
- 4) Die obigen Feststellungen führen zu dem allgemeinen Schlusse, daß durch Zusatz der (homologen bzw. heterologen) Lipoide zu den mikrobiotischen Substanzen a) die Giftigkeit der letzteren vermindert und b) ihre (spontane bzw. induzierte) Phagozytierbarkeit gesteigert wird. Dieser Schluß steht in vollem Einklange mit dem unserer

ersten Mitteilung, sowie mit dem Befunde von Kawai¹⁾, daß die Bakterien durch Entfettung einerseits an Toxizität zunehmen und andererseits

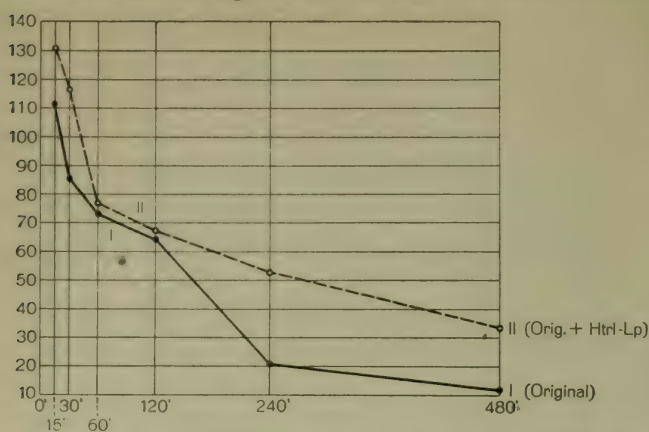


Fig. 4. Der Unterschied der Phagozytose (Phagozytatewerte) zwischen den (Orig)- und (Orig + Htrl-Lp)-Tieren bei Fig. 3.

ihre Phagozytierbarkeit selbst in einem spezifisch immunisierten Individuum einbüßen. Daran schließt sich ganz natürlich die weitere Folgerung, daß immunogene Materialien unter Mitwirkung von den in demselben Medium befindlichen Lipoiden vom Organismus besser ausgenutzt werden als ohne dieselbe und

Versuch III.

Durchschnittliche Ergebnisse der Phagozytose von (Orig + Hml-Lp) bzw. (Orig + Htrl-Lp) im Blutkreislaufe von 3 normalen Meer-schweinchen.

Zu dieser Prüfung haben wir die originale Aufschwemmung von Staphylokokken in 2 gleiche Teile geteilt und jeden Teil mit der gleichen Menge der Suspensionen von homologen bzw. heterologen Lipoiden versetzt. Die Trübung beider Lipoidsuspensionen war vorher nephelometrisch kontrolliert und gleich eingestellt worden. Auch hatten wir festgestellt, daß die antikomplementäre Fähigkeit der Suspensionen beider Lipoidarten, die sich in der SRR-Menge²⁾ dokumentiert, fast die gleiche war. Ueber die Versuchsergebnisse geben Tabellen V, VI und die Abbildungen 5 und 6 Aufschluß.

Tabelle V. (Orig + Hml-Lp).

Untersuchung	Ges. W.	Unter 200 weißen Zellen					
		fres. Z.	gefres. Kok.	Phagozytat	Neutrophile Zellen		
					fres. Z.	gefres. Kok.	
In der Norm	12800	0	0	0	0	0	
Intravenöse Injektion einer Aufschwemmung von abgetöteten Staphylokokken (Orig + Hml-Lp) in der Menge von 0,5 ccm (ca. 0,0035 ccm Kokken).							
Zeit nach Einverleibung von Kokken bis zur Blutuntersuchung	15 Min.	13800	12,4	35,1	47,5	10,7	30,0
	30 "	13800	11,0	37,3	48,3	9,7	33,3
	60 "	9800	10,4	46,0	56,4	8,7	40,0
	120 "	9700	7,6	25,1	32,7	7,0	23,7
	240 "	10600	10,3	28,0	38,0	10,3	28,0
	380 "	10200	11,0	36,0	47,0	10,0	30,7
Summe	78 700	62,7	207,5	270,2	56,4	185,7	

Phagozytosekoeffizient = 3,4.

1) Diese Ztschr., Bd. 102. 1927. S. 423.

2) Torikata, Acta schol. med. univ. imper. in Kioto. Vol. 8. 1926.

Tabelle VI. (Orig + Htrl-Lp).

Untersuchung	Ges. W.	Unter 200 weißen Zellen					
		fres. Z.	gefres. Kok.	Phago- zytat	Neutrophile Zellen		
					fres. Z.	gefres. Kok.	
In der Norm	12 200	0	0	0	0	0	
Intravenöse Injektion von (Orig + Htrl-Lp) ceterius paribus.							
Zeit nach Ein- verleibung von Kokken bis zur Blut- untersuchung	15 Min.	12 600	8,0	20,7	28,7	7,0	18,7
	30 "	13 200	8,3	30,7	39,0	8,3	30,7
	60 "	10 800	6,7	20,3	27,0	6,0	17,3
	120 "	7 100	9,7	32,0	41,7	9,7	32,0
	240 "	10 300	6,0	26,0	32,0	6,0	26,0
	480 "	9 500	4,3	13,4	17,7	4,0	12,7
Summe	75 700	43,0	143,1	186,1	41,0	137,4	
Phagozytosekoeffizient = 2,5.							

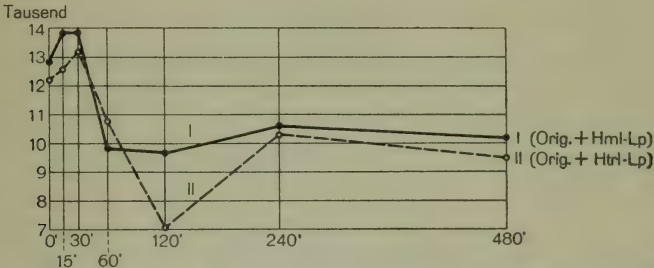


Fig. 5. Die Schwankung der Anzahl der gesamten weißen Zellen im Blute normaler Meerschweinchen, die
I. Orig + Hml-Lp } intravenös erhalten hatten.
II. Orig + Htrl-Lp }

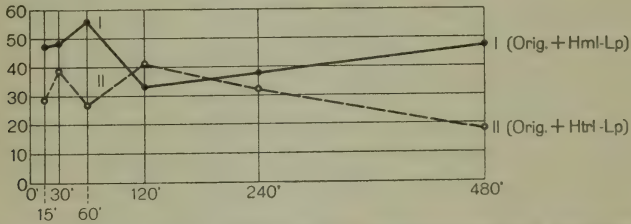


Fig. 6. Der Unterschied der Phagozytose (Phagozytatwerte) zwischen den (Orig + Hml-Lp)- und (Orig + Htrl-Lp)-Tieren bei Fig. 5.

Ergebnis.

1) Sowohl homologe als auch heterologe Lipoide in derselben Dosis, vermischt mit einer bestimmten Menge von Staphylokokken, verursachen fast die gleichen Unterschiede in der Zahl der Leukozyten im Blute der Versuchstiere. Daraus ist wohl zu schließen, daß die beiden Arten Lipoide auf die Herabsetzung der Toxizität der originalen Aufschwemmung von Staphylokokken ohne Unterschied fast die gleichen Einflüsse ausübten.

2) Der Phagozytatwert betrug 270,2 bei (Orig + Hml-Lp) und 186,1 bei (Orig + Htrl-Lp); der Phagozytosekoeffizient 3,4 beim ersteren und 2,5 beim letzteren. Dieser Befund zeigt uns, daß die die Phagozytose fördernde Wirkung homologer Lipoide gegenüber derjenigen heterologer Lipoide zwar nicht

sehr beträchtlich, doch eine etwas größere war. Dieser Unterschied ist sehr wahrscheinlich nicht auf die Natur der Lipoidarten, sondern eher auf die homologen bzw. heterologen Proteinkörper, die sich von den Lipoiden nicht ganz trennen ließen, zurückzuführen. Wir nehmen also vorläufig an, daß Bakterienleiber auch unter Mitwirkung von gelösten homologen mikrobiotischen Proteinen besser phagozytiert werden als unter der von heterologen, während ihre Phagozytose sowohl von **homologen** als auch von **heterologen Lipoiden**, denen die Artspezifität eigentlich nicht zukommt, in demselben Maße gesteigert wird, vorausgesetzt, daß dabei Proteine bzw. Lipide nur ganz reine sind. Somit stehen wir vor einer neuen Frage, auf welchen der beiden Bestandteile der Heilmittel, dem Proteinkörper oder Lipoid die spontane (unspezifische) Phagozytose fördernde Wirkung verschiedenartiger unspezifischer Reizmittel bei der sogen. Proteinkörperreiztherapie (Zellprotoplasmaaktivierung) zurückzuführen ist.

Zusammenfassung.

1) Durch Zusatz der homologen sowie heterologen Lipide zu einer Aufschwemmung von Staphylokokken wurden die dadurch bewirkten Unterschiede in der Anzahl der gesamten weißen Zellen im Blute der Versuchstiere bedeutend geringer. Dies bedeutet eine Herabsetzung der Toxizität der Mikrobenaufschwemmung infolge der Mitwirkung von Lipoiden.

2) Dabei war die spontane Phagozytose der Mikroben eine beträchtlich größere bei den **Lipoidtieren** als bei den Kontrolltieren. Dies bedeutet im allgemeinen eine wesentliche Erhöhung der Phagozytose der *materia peccans* unter Mitwirkung von Lipoiden.

3) Die Herabsetzung der Toxizität der *materia peccans* einerseits und die Erhöhung ihrer Phagozytose andererseits bilden einen einheitlichen Prozeß, der dafür spricht, daß die Erreger als **Immunogene** vom Organismus besser und ausgiebiger ausgenutzt werden als sonst.

4) Daß die Bakterien durch Entfettung einerseits an Toxizität zunehmen (Kawai), andererseits schlechter phagozytierbar werden als sonst (Ischimoto), steht ganz im Einklange mit der obigen Feststellung.

5) Zusatz von homologen bzw. heterologen Lipoiden zu einer sowohl nephelometrisch als auch mittels SRR-Komplementbindung kontrollierten gleichen Dosis führte zu fast gleichen Schwankungen der gesamten weißen Zellen im Blute der Versuchstiere (Fig. 5), d. h. also zu derselben Verminderung der Toxizität der originalen Aufschwemmung der Mikroben.

6) Dabei war jedoch die Phagozytose eine etwas größere bei den Tieren, die homologe Lipide erhalten hatten, als bei denjenigen, denen heterologe Lipide einverleibt worden waren. Dieser Befund ist jedoch nur dem Umstande zuzuschreiben, daß die beiden Lipoidarten mit ihren eigenen Proteinkörpern verunreinigt waren, und daß die Erreger unter Mitwirkung ihrer eigenen (homologen) gelösten Proteinkörper in demselben Medium besser phagozytiert werden als unter der der heterologen.

7) Von den die Phagozytose der Mikrobenleiber steigernden Substanzen müssen wir somit vorläufig 2 Arten annehmen: 1) Proteinstoffe und 2) Lipoide, wobei die Wirkung der ersteren allein artspezifisch ist. Daß sich die beiden Substanzen, Proteinstoffe und Lipoide, in der Tat nicht gänzlich voneinander trennen lassen, ist bekannt. Bei der obigen Auseinandersetzung handelt es sich nur um eine theoretische Erwägung.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über die Wirkung des Lichtes auf Bakterien.

[Aus der bakteriologisch-serologischen und der physiologisch-chemischen Abteilung des Städtischen Krankenhauses am Urban zu Berlin.]

Von **Fritz v. Gutfeld** und **Ludwig Pincussen**.

Mit 12 Abbildungen im Text.

Es ist seit langem bekannt, daß die Strahlung auf Bakterien eine deutliche Wirkung ausübt. Schon Downes und Blunt (1, 2) stellten fest, daß sowohl direktes Sonnenlicht, wie auch sogar diffuses Licht die Entwicklung von Bakterien deutlich hemmt, und ferner, daß die Wirkung auf die verschiedenen Kleinbewesen eine verschiedene ist. Sie fanden auch schon, daß die stärker gebrochenen Strahlen in der Regel die größte Wirkung ausüben, Befunde, welche später auch von Marshall Ward (3, 4, 5) weiter ausgearbeitet und bestätigt wurden. Es hat dann die Finsensche Schule auf diesem Gebiete weiter gearbeitet; zunächst hat Finsen (6) die Wirkung der Intensität für die Abtötung der Bakterien betont; seine Mitarbeiter Bie (7) und S. Bang (8) haben diese Befunde vertieft und vor allen Dingen die Wichtigkeit der ultravioletten Strahlen dargetan. Es ist an dieser Stelle nicht möglich, die weitere, diese Fragen behandelnde Literatur anzuführen, die in den Zusammenfassungen von Jesionek (9), Hausmann (10), Pincussen (11) gesammelt ist. Im wesentlichen werden durch die neueren Untersuchungen die alten grundlegenden Befunde bestätigt und ergänzt. Die neueren Forschungen drehen sich hauptsächlich um zwei Fragen: 1) welche Wellenlängen für die Abtötung bzw. Schädigung maßgebend sind, ob allein die kurzwelligen Strahlen eine Rolle spielen, oder ob die Kombination mit langwelligen Strahlen die Wirkung steigert, und 2) ob und welche Kleinbewesen besonders empfänglich gegenüber der Strahlung sind.

Die pathogenen Mikroorganismen zeigen mehrere Eigenschaften, die ihnen allen gemeinsam sind. Sie sind farblos, woraus sich ohne weiteres eine verhältnismäßig geringe Absorption für farbiges Licht ergibt, während die ultravioletten Strahlen in reichem Maße absorbiert werden: es erklärt sich hieraus die große Wirksamkeit dieser Strahlungsarten. Die Masse der einzelnen Bakterienzelle ist verhältnismäßig sehr gering, so daß in dünneren Suspensionen nur ein verhältnismäßig geringer Teil des auffallenden Lichtes zur Wirkung gelangen kann, während ein großer Anteil hindurchgeht. Im Zusammenhang mit der sehr geringen Größe des einzelnen Mikroorganismus steht die gewaltige Oberflächenentwicklung — auf die Gewichtseinheit bezogen — wodurch wiederum eine verhältnismäßig große Aufnahme von Licht bedingt wird.

Was nun den Mechanismus der Lichtbeeinflussung betrifft, so ist daran zu denken, daß es sich um Entladungsvorgänge, den sogenannten Hallwachs-

Effekt handelt, nämlich die Entfernung der elektrischen negativen Ladung, die nach den Angaben von P. Schmidt (12) und anderen bei fast allen Bakterien vorhanden ist. Wir müssen wohl annehmen, daß die Ladung mit den Lebensvorgängen in innigem Zusammenhang steht, und daß ihr Verlust das Leben empfindlich stören muß. Jedenfalls aber ist diese Entladung nur als Beginn derjenigen Vorgänge anzusehen, die schließlich zum Tode des Kleinlebewesens führen. Es ist nun wohl möglich, daß solche elektrischen Entladungserscheinungen sich nicht nur auf den ganzen Organismus, selbst des kleinsten Lebewesens, sondern auch auf seine Bestandteile, auch solche, die wir mit unsern optischen Hilfsmitteln nicht differenzieren können, beziehen. Ist doch die elektrische Ladung sogar ein Charakteristikum der Atome. Bei Kolloiden äußert sich der Verlust der Ladung in einer Verminderung der Stabilität, in einer Zusammenlagerung sonst durch elektrische Kräfte auseinandergehaltener Teilchen. Diese Erscheinung wird besonders deutlich bei kleinsten Aggregaten sein, und auf diese Weise ist auch von Pincussen (13) die Einwirkung der Strahlung auf die Fermente ausgelegt worden, welche am stärksten bei der optimalen Fermentreaktion ist, d. h. bei der Reaktion, bei welcher der kolloide Fermentbestandteil in feinsten Verteilung vorhanden ist. Die Verteilung der Kolloidteilchen in Lösungen wird geregelt durch ihren Ionengehalt. Die wichtigste Rolle spielt das Wasserstoff-Ion. Man kann aber die Dispersität der kolloiden Lösungen auch durch die Zugabe anderer Ionen als des Wasserstoffions modifizieren. Die Hofmeisterschen Quellungsreihen zeigen sowohl für die Anionen wie für die Kationen deutliche Gesetzmäßigkeiten; die Anionen ordnen sich in ihrer quellenden, also dispersitätsvermehrenden Wirkung ungefähr in der Reihe — nach zunehmender Quellung geordnet — SO_4 , Tartrat, Zitrat < Acetat < Cl < Br, NO_3 < J < SCN. Für die Kationen gilt — ebenfalls nach zunehmender Quellung geordnet — die Reihe Ca, Ba < Sr < Mg < Li < Na < K; doch sei sogleich bemerkt, daß hier die Regelmäßigkeit nicht so scharf ist wie bei der Anionenreihe, und Verschiebungen in der Stellung der einzelnen Ionen, besonders was das Magnesium betrifft, nicht selten sind.

In neueren Untersuchungen (13a) hat sich nun herausgestellt, daß ein Antagonismus, der besonders für Kalium einerseits und Kalzium andererseits deutlich ausgeprägt ist, für die Lichtschädigung der Fermente besteht, in dem Sinne, daß mit Kaliumsalz versetzte Fermentlösungen ihre Aktivität unter Bestrahlung in höherem Maße einbüßen, als solche, denen die äquivalente Menge Kalziumsalz zugefügt wurde. In biologischen Versuchen wurde von Pincussen (14) erwiesen, daß ganz entsprechende Verhältnisse für den lebenden Organismus Einfluß erlangen können. In Kaliumsalzlösungen gehaltene Kaulquappen starben bei der Bestrahlung mit der Quecksilberlampe viel schneller ab als solche, die in Kalziumsalzlösungen gehalten wurden.

Wie schon erwähnt, wird die erhöhte Lichtwirkung auf die vergrößerte Dispersität, die erhöhte Oberflächenentwicklung der bestrahlten Substanz, zurückgeführt. Es erschien nun durchaus möglich, daß auch bei Bakterien auf Grund eines ähnlichen Mechanismus eine Beeinflussung zu erzielen wäre. Vielleicht konnte durch eine Erhöhung der Quellung des Bakterienleibes die Aufnahme und damit auch die Wirkung der Strahlung in ähnlicher Weise intensiviert werden, wie es bei den in Kaliumlösung gehaltenen Kaulquappen geschah, vielleicht war wie hier durch Kalisalzwirkung eine Dispersitätsvermehrung der Oberfläche, eine „Quellung“, also eine größere Angriffsfläche zu schaffen, so daß die erste Stufe der Lichtwirkung, die elektrische Entladung, verstärkt und durch die darauffolgenden gekoppelten Vorgänge die Wirkung der Strahlung erhöht wurde. Das umgekehrte Verhalten, Herabsetzung der Strahlenwirkung, war vielleicht durch Kalziumsalzwirkung zu erzielen.

Die anschließend geschilderten Versuche sind, wie die Protokolle und die Beschreibung ergeben, in einfachster Weise auf die Beantwortung dieser einen Frage gerichtet. Unter im übrigen ganz gleichen Bedingungen sind Bakterien-suspensionen unter Zugabe von dispersitätsvergrößernden Kaliumionen einerseits, dispersitätsvermindernden Kalziumionen andererseits, in mehreren Versuchen auch von den in der Mitte zwischen diesen Extremen stehenden Natrium- und Magnesiumionen dem Einfluß der gleichen Strahlenquelle ausgesetzt worden.

Versuchsanordnung: Eine Reihe von Quarzröhrchen (95 mm lang, 8 mm lichte Weite) wurde mit je 2 ccm der zu prüfenden Flüssigkeiten besetzt und mit Wattestopfen verschlossen. Nach 30 Minuten langer Sterilisierung im Dampftopf und Abkühlung auf Zimmertemperatur wurden sämtliche Röhrchen mit je einem Tropfen einer dünnen Bakterienaufschwemmung (24stünd. Kultur mit destilliertem Wasser abgeschwemmt; 1 ccm der Aufschwemmungen enthielt ca. 60—600 Millionen Keime) infiziert. Die Röhrchen wurden dann verschieden lange Zeit bei Zimmertemperatur den Strahlen einer Quecksilberamalgamelektrode ausgesetzt. Dicht neben jedes zu bestrahlende Röhrchen wurde ein gleichartiges (gleiche Größe, gleiche Versuchsflüssigkeit, gleichartige Infektion) Glasröhrchen, mit schwarzem Papier umhüllt, gestellt. Dieses Röhrchen diente als Kontrolle. Die Belichtungsdauer wurde mittels Stoppuhr gemessen. Die Entfernung der Röhrchen vom Quarzbrenner betrug in den meisten Versuchen 100 cm. Mit der Belichtung wurde angefangen, wenn Voltmeter und Ampèremeter ein gleichmäßiges Brennen der Lampe erkennen ließen. (Netzspannung 220 Volt Gleichstrom; durch Einschalten eines Widerstandes brannte die Lampe mit 94 Volt Klemmenspannung bei 3,5 Ampère). Unmittelbar nach Beendigung der Belichtung wurde aus den belichteten Röhrchen und aus den zugehörigen Kontrollröhrchen auf Platten abgeimpft. Zu allen Abimpfungen wurden stets gleichgroße Oesen benutzt. Das Ergebnis wurde nach 24stünd. Bebrütung abgelesen und protokolliert. Die Versuche erstrecken sich auf *Bact. coli*, Typhusbazillen, Paratyphus B-Bazillen, Shiga-Kruse-Bazillen, Staphylokokken und Diphtheriebazillen. Geprüft wurden hauptsächlich folgende Flüssigkeiten: Destilliertes Wasser, n/5 und n/10 Lösungen von KCl, CaCl_2 ; in mehreren Versuchen auch NaCl- und MgCl_2 -Lösungen.

In jedem Versuch wurden mindestens 2 verschiedene Versuchslösungen gleichzeitig geprüft, um Vergleichswerte zu erhalten. Die in den unten wiedergegebenen Figuren dargestellten Werte sind daher nicht absolute Zahlen, sondern sie stellen Vergleichswerte dar.

Alle hier mitgeteilten Versuche wurden an verschiedenen Tagen mehrfach wiederholt. Das Gesamtergebnis aller Versuche mit je einer Keimart zeigen die graphischen Darstellungen. Es sei ausdrücklich betont, daß sämtliche unbelichteten Kontrollen in unseren sämtlichen Versuchen stets unvermindertes Wachstum zeigten. Eine Keimschädigung durch die benutzten Versuchsflüssigkeiten allein ist bei der von uns gewählten Versuchsanordnung demnach auszuschließen. Um einen Vergleich für die Wachstumsstärke der Keime auf den Platten zu erhalten, wurde zu jedem Versuch noch eine besondere Kontrolle angelegt: 2 ccm Aq. dest. wurden mit 1 Tropfen der für alle Röhrchen zu benutzenden Keimaufschwemmung infiziert; von dieser „Testaufschwemmung“ wurde sofort eine Oese auf eine Platte ausgestrichen.

Aus dem Protokoll ist ersichtlich, daß in diesem Versuch bereits nach 2 Min. eine partielle Abtötung der belichteten Keime in sämtlichen 5 Versuchsflüssigkeiten als Folge der Lichtwirkung eingetreten ist. Nach 4 Min. langer Belichtung sind die Keime in dem Röhrchen mit n/5NaCl-Lösung abgetötet,

Nachstehend geben wir als Beispiel das Protokoll eines unserer Versuche.

Versuch vom 23. 1. 28.

Belichtungszeit in Minuten	2		4		6	
	V	C	V	C	V	C
Aqua dest.	(±)	+	8	+	—	+
n/5 KCl	(±)	+	8	+	—	+
n/5 CaCl ₂	(±)	+	10	+	—	+
n/5 NaCl	(±)	+	—	+	—	+
n/5 MgCl ₂	(±)	+	10	+	—	+

Wachstum der Testaufschwemmung: +

Zeichenerklärung: V = belichtetes Versuchsröhrchen, C = unbelichtetes Kontrollröhrchen, + = reichliches Wachstum, (±) = deutlich vermindertes Wachstum, 8 = nur noch 8 Kolonien gewachsen, — = kein Wachstum.

nach 6 Min. langer Belichtung sämtliche Keime auch in den anderen Versuchsröhrchen. Die unbelichteten Kontrollen zeigen sämtlich ein ebenso starkes Wachstum wie die Testaufschwemmung.

Die nachfolgenden graphischen Darstellungen zeigen den Durchschnitt aus sämtlichen Versuchen mit je einer Keimart. Aus ihnen ergibt sich die für die Schädigung (Abtötung) durch Licht erforderliche Zeitdauer ohne und mit Zusatz der verschiedenen Salze, wobei die für die Schädigung (Abtötung) durch Licht in destilliertem Wasser erforderliche Zeit gleich 1 gesetzt ist.

Die Werte der Figuren sind so gewonnen, daß aus mehreren gleichartigen Versuchen das Mittel genommen wurde: die erhaltenen Resultate stellen die Durchschnittswerte aus mindestens 4 Versuchen dar; häufig aus einer sehr weit größeren Anzahl (bis zu 13 Einzelversuche).

I. Versuche mit Coli-Bazillen.

Die Gegenwart der benutzten Salze bewirkte, daß eine Keimschädigung bereits nach einer etwas kürzeren Lichteinwirkung auftrat als in Aq. dest. Ein Unterschied der verschiedenen Salze ist nicht vorhanden.

Dauer der Lichtwirkung, welche eine

deutliche Schädigung bei Zusatz gewisser Salze bewirkt (Schädigung durch Licht ohne Salzzusatz = 1 gesetzt).

Aq. K Ca Na Mg
dest.

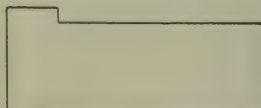


Fig. 1.

völlige Abtötung bei Zusatz gewisser Salze bewirkt (Abtötungszeit durch Licht ohne Salzzusatz = 1 gesetzt).

Aq. K Ca Na Mg
dest.

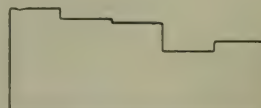


Fig. 2.

Auch die völlige Abtötung wird durch Zusatz der 4 Salzarten etwas beschleunigt, am meisten durch Natriumchloridzusatz. Der theoretisch erwartete Unterschied zwischen der Wirkung von Kalium und Kalzium ist in den Versuchen mit Bact. coli nicht vorhanden.

II. Versuche mit Typhusbazillen.

Dauer der Lichtwirkung, welche eine

deutliche Schädigung bei Zusatz gewisser Salze bewirkt (Schädigung durch Licht ohne Salzzusatz = 1 gesetzt).

Aq. K Ca Na Mg
dest.

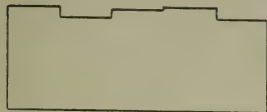


Fig. 3.

völlige Abtötung bei Zusatz gewisser Salze bewirkt (Abtötungszeit durch Licht ohne Salzzusatz = 1 gesetzt).

Aq. K Ca Na Mg
dest.

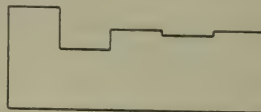


Fig. 4.

Auch hier sind die Differenzen zwischen den Wirkungen der einzelnen Salze im Verein mit der Lichtwirkung keine erheblichen.

III. Versuche mit Paratyphus B-Bazillen.

Dauer der Lichtwirkung, welche

deutliche Schädigung bei Zusatz gewisser Salze bewirkt (Schädigung durch Licht ohne Salzzusatz = 1).

Aq. K Ca Na Mg
dest.

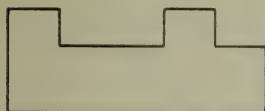


Fig. 5.

völlige Abtötung bei Zusatz gewisser Salze bewirkt (Abtötungszeit durch Licht ohne Salzzusatz = 1).

Aq. K Ca Na Mg
dest.

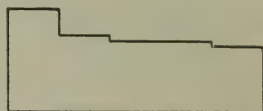


Fig. 6.

In diesen Versuchen übt die Anwesenheit von Natriumchlorid einen gewissen Schutz gegen die Lichtschädigung aus; die völlige Abtötung der Keime wird aber durch keine der angewandten Salzlösungen deutlich beeinflusst.

IV. Versuche mit Shiga-Bazillen.

Dauer der Lichtwirkung, welche

deutliche Schädigung bei Zusatz gewisser Salze bewirkt (Schädigung durch Licht ohne Salzzusatz = 1).

Aq. K Ca
dest.

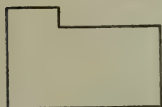


Fig. 7.

völlige Abtötung bei Zusatz gewisser Salze bewirkt (Abtötungszeit durch Licht ohne Salzzusatz = 1).

Aq. K Ca
dest.

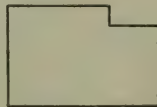


Fig. 8.

Die Gegenwart von Kalium- bzw. Kalziumchlorid ist ohne wesentlichen Einfluß auf die schädigende und abtötende Wirkung der ultravioletten Strahlen.

Betrachten wir die bisher beschriebenen Versuche, so erkennen wir, daß die theoretisch erwartete Wirkung der Kalium- bzw. Kalziumsalze nicht in die Erscheinung getreten ist. Bei Verwendung von Typhusbazillen ist allerdings eine Andeutung davon vorhanden (s. Fig. 4), andererseits sehen wir das umgekehrte Verhalten bei den Shiga-Bazillen (s. Fig. 8) angedeutet.

Bei der Auswahl der benutzten Keimarten hatten wir zunächst gramnegative Keime untersucht, die sich biologisch durch den Grad ihrer Beweglichkeit (lebhaft, schwach, nicht beweglich) unterscheiden. Da die Versuche mit den benutzten gramnegativen Keimen keinen Einfluß der verschiedenen Salze auf die Lichtwirkung erkennen ließen, wandten wir uns der Untersuchung grampositiver Keime zu.

V. Versuche mit Staphylokokken.

Dauer der Lichtwirkung, welche

deutliche Schädigung bei Zusatz gewisser Salze bewirkt (Schädigung durch Licht ohne Salzzusatz = 1),

völlige Abtötung bei Zusatz gewisser Salze bewirkt (Abtötungszeit durch Licht ohne Salzzusatz = 1).

Aq. K Ca Na Mg
dest.



Fig. 9.

Aq. K Ca Na Mg
dest.



Fig. 10.

In den Versuchen mit Staphylokokken fällt eine beträchtliche Wirkung des Kalziums auf: die Zeit, in welcher eine deutliche Schädigung durch ultraviolettes Licht erzielt wird, ist bei Gegenwart von Kalziumchlorid dreimal so groß als in destilliertem Wasser. Die völlige Abtötung der Keime wird allerdings durch die Anwesenheit von Kalziumchlorid nur unwesentlich hinausgeschoben.

ziumchlorid dreimal so groß als in destilliertem Wasser. Die völlige Abtötung der Keime wird allerdings durch die Anwesenheit von Kalziumchlorid nur unwesentlich hinausgeschoben.

VI. Versuche mit Diphtheriebazillen.

In den Versuchen mit Diphtheriebazillen kommt die theoretisch erwartete Wirkung der Kalziumlösung deutlich zum Ausdruck. Eine Schädigung der Keime tritt erst nach viermal so langer Bestrahlung ein als in Aq. dest.; die völlige Abtötung erfolgt nach etwa $2\frac{1}{2}$ mal so langer Bestrahlung als in Aq. dest. Ein schädigender Einfluß durch die Gegenwart von Kalium ist allerdings nicht oder kaum vorhanden.

Ueberblicken wir die Gesamtheit unserer Versuche, so ergibt sich, daß die Gegenwart von Chloriden verschiedener Kationen ($n/5$ - und $n/10$ -Lösungen von Kalium-, Kalzium-, Natrium- und Magnesiumchlorid) die durch ultraviolette Strahlen der Quecksilberdampfampe erzielbare Schädigung bzw. Abtötung in ihrem zeitlichen Ablauf bei Verwendung gramnegativer Keime (Coli-, Typhus-, Paratyphus B-, Shiga—Bazillen) nicht wesentlich zu beeinflussen vermochte. Bei den in besonders zahlreichen Versuchen geprüften grampositiven Keimarten (Staphylokokken, Diphtheriebazillen) machte sich

eine deutliche Schutzwirkung des Kalziumchlorids bemerkbar, die bei den Staphylokokken in einer Verlängerung der zur teilweisen Abtötung benötigten Zeitspanne zum Ausdruck kam, und bei den Diphtheriebazillen erhebliche

Dauer der Lichtwirkung, welche

deutliche Schädigung bei Zusatz gewisser Salze bewirkt (Schädigung durch Licht ohne Salzzusatz = 1).

völlige Abtötung bei Zusatz gewisser Salze bewirkt (Abtötungszeit durch Licht ohne Salzzusatz = 1).

Aq. K Ca Na Mg
dest.



Fig. 11.

Aq. K Ca Na Mg
dest.

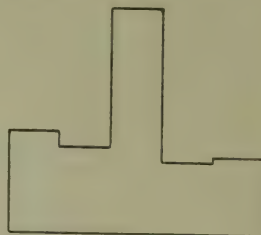


Fig. 12.

Werte — sowohl für den Schutz gegen Schädigung wie gegen völlige Abtötung — erreichte.

Ob dieses Verhalten der grampositiven Bakterien in Zusammenhang mit ihrem Verhalten der Gram-Färbung gegenüber steht, soll vorläufig nicht erörtert werden.

Worauf die Schädigung durch Licht beruht, können wir aus den hier mitgeteilten Versuchen nicht erkennen. Die von uns in jedem einzelnen Versuch angesetzten Kontrollen beweisen aber, daß die beobachtete Wirkung ausschließlich eine Folge der Bestrahlung sein muß. Wir haben aber zwei Möglichkeiten einer indirekten Strahlenwirkung ausschalten können.

Erstens war es denkbar, daß infolge der Bestrahlung die Temperatur in den Röhrchen so hoch wurde, daß die Abtötung der Keime eine Folge der Hitzewirkung darstellte. Wir haben uns in besonderen Versuchen davon überzeugt, daß die Temperatur in den Quarz- wie in den Glasröhrchen nach 15 Min. langer Bestrahlung bei einer Entfernung von 15 cm von der Quarzlampe von 18,5° auf 32° stieg. Bei unseren Bestrahlungen, die meist bei 100 cm Entfernung vorgenommen wurden, und in denen die Zeit im Höchsthalle 10 Min. betrug, war eine meßbare Temperaturerhöhung überhaupt nicht vorhanden.

Zweitens konnte man daran denken, daß infolge der Bestrahlung die Wasserstoffionenkonzentration der bestrahlten Flüssigkeiten Aenderungen erleide, die eine Abtötung der Keime herbeiführen konnte. Besondere darauf gerichtete Versuche zeigten uns indes, daß selbst eine viel intensivere Bestrahlung, als wir in unseren Hauptversuchen anwendeten, den pH-Wert der benutzten Flüssigkeiten überhaupt nicht änderte.

Es ergeben sich aber aus unseren Versuchen verschiedene Wege, die zur Aufklärung der Ursache der Strahlenwirkung führen können. Wenn die verschiedene Beeinflussung von Bakterienspezies vom Quellungsstande abhängig ist, so wäre natürlich zu erwarten, daß ähnliche Differenzen auch durch andere Ionen als die Kationen-Antagonisten Kalium und Kalzium erzielt

werden können. Hier kommt in erster Reihe das Wasserstoffion in Frage, welches bekanntlich die Quellung ebenfalls maßgeblich beeinflußt; das Minimum der Quellung liegt bei der Wasserstoffionenkonzentration, welche den isoelektrischen Punkt des betreffenden Eiweißkörpers charakterisiert, während beiderseits von diesem Quellungsminimum sowohl nach der saueren Seite (höhere Wasserstoffionenkonzentration = kleinerem pH) wie nach der alkalischen Seite (niedere Wasserstoffionenkonzentration = größerem pH) die Quellung zunimmt. Es wird also zu prüfen sein, ob und in wie weit auch bei den Bakterien das Wasserstoffion auf die Lichtschädigung Einfluß gewinnen kann in ähnlicher Weise, wie es für die Fermente bereits festgestellt ist. Auch für die Anionen besteht, wie schon anfangs erwähnt, eine Quellungsreihe, und es wäre zu erwarten, daß der Zusatz stärker quellender Anionen, wie des Sulfozyan-Anions, die Lichtempfindlichkeit steigert, bzw. daß das SO_4 -Anion die Lichtempfindlichkeit hinabsetzt. Solche Versuche sind bereits im Gange, und es wird in Kürze darüber berichtet werden.

Nun ist es eigenartig, daß in unseren Versuchen die Kationenquellungsreihe zwar für einzelne Mikroorganismen, und zwar auffallenderweise gerade für die grampositiven Diphtheriebazillen und Staphylokokken im wesentlichen die erwarteten Unterschiede ergab, während für die anderen Bakterien, und zwar die gramnegativen, eine solche Gesetzmäßigkeit nicht festzustellen war. Da die Quellungsregeln nur für reine organische Körper ohne Salzgehalt Geltung besitzen, wird man sich also fragen müssen, ob nicht vielleicht der Gehalt der untersuchten Mikroorganismen an den verschiedenen Kationen ein derartiger ist, daß schon hieraus diese Differenzen zu erklären wären. Bei allen Lebensvorgängen, bei denen der Ionengehalt eine Rolle spielt, haben wir es ja nie mit Einzelionen zu tun, sondern stets mit einem Gemisch, bei dem freilich das eine oder andere Ion überwiegt und damit ausschlaggebend wirkt. Es ist wohl denkbar, daß ähnliche Verhältnisse auch hier obwalten, und daß reichliche Gegenwart des einen Ions in dem Mikroorganismus selbst die Wirkung eines in der Außenflüssigkeit vorhandenen Ions abschwächt oder vernichtet. Hier werden Untersuchungen über den Ionengehalt der verschiedenen Mikroorganismen Aufklärung geben müssen. In der Literatur sind verwertbare Angaben so gut wie nicht vorhanden, und wir haben darum selbst damit begonnen, systematisch solche Untersuchungen anzustellen.

Die Unterschiede in der Beeinflußbarkeit durch Licht in verschiedenen Kationenlösungen könnten selbstverständlich auch in der Quellungsmöglichkeit des organischen Körpers selbst liegen; es ist ja ganz bekannt, daß die Fähigkeit der Wasseraufnahme auch eine Funktion des Körpers selbst ist, unbeschadet der Tatsache, daß diese Quellungsfähigkeit den bereits besprochenen Gesetzen gehorcht. Auch auf diese Frage werden sich fernere Versuche zu erstrecken haben.

Wie schon eingangs erwähnt, ist die Abtötung von Bakterien durch Licht schon von verschiedenen Seiten studiert worden. Auch die verschiedene Widerstandsfähigkeit der einzelnen Arten ist seit langem bekannt. Eine praktische Folgerung aus dieser Tatsache bedeuten die Tierversuche von Friedberger und Shioji (15), in denen eine Desinfektion der Mundhöhle durch ultraviolett Licht gelang, sowie die Mitteilung von Friedberger und Mironescu (zit. in 15), daß bei der Bestrahlung von Pockenvakzine eine elektive Wirkung in dem Sinne auftritt, daß die Begleitbakterien abgetötet werden können, ohne daß das Pockenvirus beeinflußt wird. Möglicherweise wird durch eine Veränderung des Milieus im Sinne unserer Versuche eine solche Wirkung schneller und sicherer zu erzielen sein. Besonders möchten wir auf die Möglichkeit hinweisen, eine schonendere Sterilisierung von Impfstoffen, als es bisher durch Erhitzen oder

Zusatz von Desinfizientien geschieht, zu erreichen. Mit Versuchen über diese Frage sind wir ebenfalls beschäftigt.

Zusammenfassung.

An verschiedenen Bakterienarten wurde die Wirkung des ultravioletten Lichtes geprüft. Die Keime waren suspendiert in 1) destilliertem Wasser bzw. in n/5- und n/10-Lösungen von 2) KCl, 3) CaCl₂, 4) NaCl, 5) MgCl₂. Die Versuche mit *Bact. coli*, *Bac. typhi*, *Bac. paratyphi B* und *Bac. dysenteriae* Shiga-Kruse zeigten keine wesentlichen Unterschiede in der Beeinflussbarkeit der Keime durch ultraviolettes Licht bei Gegenwart der verschiedenen Salze. In Versuchen mit *Staphylococcus aureus* war die bis zum Eintritt einer deutlichen Keimschädigung notwendige Bestrahlungsdauer bei Gegenwart von Kalziumchlorid dreimal so groß als in destilliertem Wasser. In Versuchen mit *Bac. diphtheriae* zeigte Kalziumchlorid einen besonders starken Schutz gegenüber der Strahlenwirkung: die bis zum Eintritt einer deutlichen Schädigung erforderliche Bestrahlungsdauer war 4mal so groß, die bis zur völligen Abtötung aller Keime notwendige Zeit etwa 2½mal so groß als in destilliertem Wasser.

Literaturangaben.

1) Downes a. Blunt, Proc. Roy. Soc. Vol. 26. 1878. p. 488. — 2) Dies., Ibid. Vol. 28. 1879. p. 199. — 3) Marshall Ward, Ibid. Vol. 52. 1893. p. 393. — 4) Ders., Ibid. Vol. 53. 1894. p. 23. — 5) Ders., Ibid. Vol. 54. 1895. p. 472. — 6) Finsen, N. R., Ueber die Anwendung von konzentrierten chemischen Lichtstrahlen in der Medizin. Leipzig. 1899. — 7) Bie, Mittl. Finsens med. Lichtinstitut. H. 7. 1904. S. 65. — 8) Bang, S., Mittl. Finsens med. Lichtinstitut. H. 9. 1905. S. 164. — 9) Jesionek, Lichtbiologie und Lichtpathologie. Wiesbaden. 1912. — 10) Hausmann, Grundzüge der Lichtbiologie und Pathologie. Berlin und Wien. 1923. — 11) Pincussen, Biologische Lichtwirkungen. München u. Wiesbaden. 1920. — 12) Schmidt, P., Arch. f. Hyg. Bd. 80. S. 63. — 13) Pincussen, Fermente und Licht. I—IX. (Biochem. Ztschr. Bd. 134 ff). — 13a) Pincussen u. Kumanomidoh, Biochem. Ztschr. Bd. 195. S. 79. 1928. — 14) Pincussen, Ibid. Bd. 182. S. 366 (1927). — 15) Friedberger u. Shioji, Dtsch. med. Wochenschr. 1914. S. 535.

Nachdruck verboten.

Endokrine Drüsen und Abwehr.

II. Mitteilung.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Leipzig (Dir. Geh. Rat Kruse).]

Von Prof. Dr. A. Seitz.

In einer früheren Mitteilung (1) hatten wir das Verhalten von nebennierenlosen Ratten studiert in bezug auf immunbiologische Vorgänge, in dem seiner Hormone stark entblößten Rattenkörper. Sowohl bakterizide Antikörper wie auch die Phagozytose waren ganz wesentlich herabgesetzt gegenüber verschiedensten Bakterien, Vorgänge, mit denen deutliche Alterationen des Blutbildes Hand in Hand gingen.

Es lag nun daran, an einer größeren Reihe von Ratten, welchen wir nach der gleichen Operationsmethode wie in der 1. Mitteilung beschrieben, beide Nebennieren entfernt hatten, ferner an solchen Tieren, welche gleichzeitig kastriert worden waren, zunächst die Erfahrung betreffs der Phagozytose zu

Doppelseitig operierte weiße Ratten von durchschnittlich 180 bis 200 g Gewicht, erhalten gewinnung. Die Bauchhöhle wird mit Ringerlösung ausgespült, die Leukozyten in üblicher 3 Tropfen 24stündl. Anthraxbouillon („Kulturbazillen“), oder aus dem Peritonealexsudat

	Kulturbazillen											
	nach 2 Stunden				nach 4 Stunden				nach 5 Stunden			
	Anzahl der gezählten Leukozyten	davon haben gefressen	es haben ge- fressen in %	Durchschnitt- lich in %	Anzahl der gezählten Leukozyten	davon haben gefressen	es haben ge- fressen in %	Durchschnitt- lich in %	Anzahl der gezählten Leukozyten	davon haben gefressen	es haben ge- fressen in %	Durchschnitt- lich in %
Ratte Nr. 95. Gew. 180 g. Nebennieren- Exstirpation ausgeführt links am 14. 2. rechts am 17. 4. Entblutet am 22. 4. Blutdruck vor den Oper. 160 cm H ₂ O, nach beiden Oper. 130 cm H ₂ O. Je- weilige Blutbefunde siehe bes. Tab.	200 200 150 180 200	35 40 20 15 45	17,5 20,0 13,3 8,3 22,5	16,3	150 200 180 200 150	20 19 26 25 40	13,3 9,5 14,4 12,5 26,6	15,2	200 200 200 200 200	35 40 28 42 42	17,5 20 14 21 21	18,
Ratte Nr. 96. Gew. 110 g. Nebennieren- extirpation l. am 14. 2., r. am 17. 4. Entblutet am 22. 4. Blutdruck vorher 158 cm H ₂ O, nachher 132 cm H ₂ O	120 120 150 200	18 16 22 27	15 13,3 14,7 13,5	14,1	200 180 180 220	22 28 30 35	11 15,5 16,4 15,9	14,8	200 200 200 200	25 28 30 40	12,5 14 15 20	15,
Ratte Nr. 106. Gew. 170 g. Operiert l. am 26. 3. + Kastrierung, operiert r. am 17. 4. Entblutet am 24. 4. Blut- druck vor den Oper. 170 cm, nach den Oper. 125 cm	70 72 80 280 250	20 28 36 20 21	28,5 37,8 45 7,2 8,4	25,6	100 200 200 180 200	35 32 40 15 19	35 16 20 8,3 9,5	17,7	200 190 200 200 200	32 30 44 41 30	16 15,7 22 20,5 15	15,8
Ratte Nr. 107. Gew. 170 g. Operiert l. am 26. 3. + Kastrierung, operiert r. am 17. 4. Entblutet am 23. 4. Blut- druck vor den Oper. 175 cm, nach den Oper. 126 cm	200 100 100 200 180 200	40 32 35 45 45 30	20 32 35 22,5 25 15	24,8	100 100 100 100 100 100	30 25 25 20 35 30	30 25 25 20 35 30	27,5	100 100 100 100 100 100	15 20 15 20 10 15	15 15 15 20 10 15	15
Ratte Nr. 111. Gew. 180 g. Operiert l. am 21. 4. + Kastrierung, operiert r. am 5. 5. Entblutet am 6. 5. Blutdruck vor den Oper. 168 cm, nach den Oper. 127 cm	200 200 200 100 100	50 40 30 35 45	25 20 15 35 45	28	200 200 100 150 150	30 35 40 50 20	15 17,5 40 33,3 13,3	23,8	200 200 100 100 100	25 28 10 12 15	12,5 14 10 12 15	12,5
Ratte Nr. 112. Gew. 150 g. Operiert l. am 21. 4. + Kastrierung, operiert r. am 5. 5. Entblutet am 10. 5. Blut- druck vor den Oper. 170 cm, nach den Oper. 126 cm	100 100 200 200 200	30 30 50 40 70	30 30 25 20 35	28	5×100 18 25 20 24 22	18 25 20 24 22	18 25 20 24 22	19,3	5×100 17 15 20 12	15 17 15 20 12	15 17 15 20 12	15,8
Ratte Nr. 114. Gew. 160 g. Operiert l. am 22. 4., r. am 9. 5. Entblutet am 12. 5. Blutdruck vorher 172, nachher 125	100 100 200 50 75	10 12 22 3 4	10 12 11 6 5,3	8,9	200 180 100 50	15 12 16 2	7,5 6,7 16 2	8,1	200 200 100 75 80	25 30 15 10 10	12,5 15 15 13,3 12,5	13,7
Ratte Nr. 115. Gew. 145 g. Operiert l. am 22. 4. + Kastrierung, operiert r. am 9. 5. Entblutet am 14. 5. Blut- druck vorher 169, nachher 128	80 100 80 50 80	9 10 5 4 3	11,3 10 6,3 8 3,8	7,9	5×100 20 12 15 20 10	20 12 15 20 10	20 12 15 20 10	15,4	5×100 18 12 18 20 10	18 12 18 20 10	18 12 18 20 10	15,6
Ratte Nr. 117. Gew. 110 g. Operiert l. am 2. 5., r. am 8. 5. Entblutet am 17. 5. Blutdruck vorher 170, nachher 138	5×100 20 22,5 15 25 10	20 22,5 15 25 10	18,5	18,5	100 50 80 100 100	20 10 8 30 32	20 20 10 30 32	22,4	80 100 50 100 100	15 30 10 20 25	18,8 30 20 20 25	22,8

belle I.

am Vortage 10 ccm sterile Bouillon ip. Nach ca. 12 Stunden Entblutung und Serum-Weise gewaschen. 6 Tropfen Leukozytenaufschwemmung, 1 Tropfen aktives Rattenserum, ip. infizierter Ratten („Exsudatbazillen“) bei 37°, ½stündl. Aufschütteln der Gläschen.

Körperbazillen

nach 2 Stunden				nach 4 Stunden				nach 5 Stunden			
Anzahl der gezählten Leukozyten	davon haben gefressen	es haben ge- fressen in %	Durchschnitt- lich in %	Anzahl der gezählten Leukozyten	davon haben gefressen	es haben ge- fressen in %	Durchschnitt- lich in %	Anzahl der gezählten Leukozyten	davon haben gefressen	es haben ge- fressen in %	Durchschnitt- lich in %
200	27	13,5	13,5	200	30	15	15,4	200	15	7,5	10,3
200	29	14,5		200	31	15,5		200	18	9	
200	32	16		200	28	14		200	24	12	
200	19	9,5		200	29	14,5		200	32	16	
200	28	14		200	36	18		200	14	7	
180	25	13,9	13,9	200	18	9	9,8	200	18	9	9,6
220	28	12,7		200	18	9		200	15	7,5	
200	30	15		200	22	11		200	20	10	
200	28	14		200	20	10		200	24	12	
80	20	26,2		100	30	30		200	25	12,5	
86	35	40,7	19,9	250	15	6	12,8	300	32	10,7	11,7
200	32	16		200	16	8		200	35	17,5	
250	20	8		200	20	10		250	20	8	
280	25	8,9		180	18	10		180	18	10	
200	20	10		100	25	25		100	15	15	
100	15	15	14,2	100	30	30	28,3	100	20	20	15,5
100	20	20		100	35	35		100	30	30	
200	30	15		100	40	40		100	10	10	
100	10	10		100	20	20		100	10	10	
100	25	25		100	20	20		100	8	8	
200	25	12,5	32	200	20	10	11,4	200	20	10	11,4
200	30	15		100	10	10		100	10	10	
100	40	40		100	12	12		100	12	12	
100	35	35		100	10	10		100	10	10	
100	30	30		100	15	15		100	15	15	
5×100	40	40	23,1	100	15	15	17	100	10	10	13,7
	45	45		200	25	12,5		200	17	8,5	
	18	18		200	35	17,5		100	18	18	
	10	10		100	20	20		100	17	17	
	15	15		100	20	20		100	15	15	
5×100	10	10	15	100	20	20	14	4×100	15	15	13
	15	15		100	20	20			20	20	
	12	12		100	10	10			10	10	
	20	20		80	6,3	6,3			12	12	
	18	18							8	8	
100	12	12	10	5×100	18	18	14,2	5×100	10	10	13
100	15	15			20	20			20	20	
50	3	6			15	15			8	8	
80	4	5			10	10			15	15	
100	12	12			8	8			12	12	
5×100	25	25	21,2	5×100	10	10	13,4	5×100	18	18	16,2
	20	20			15	15			20	20	
	16	16			12	12			15	15	
	20	20			10	10			25	25	
	25	25			20	20			3	3	

Tabelle

	Kulturbazillen											
	nach 2 Stunden				nach 4 Stunden				nach 5 Stunden			
	Anzahl der gezählten Leukozyten	davon haben gefressen	es haben ge- fressen in %	Durchschnitt- lich in %	Anzahl der gezählten Leukozyten	davon haben gefressen	es haben ge- fressen in %	Durchschnitt- lich in %	Anzahl der gezählten Leukozyten	davon haben gefressen	es haben ge- fressen in %	Durchschnitt- lich in %
Ratte Nr. 118. Gew. 150 g. Operiert l. am 2. 5., r. am 18. 5. Entblutet am 25. 5. Blutdruck vorher 158. nachher 140	5×100	18 35,7 3,8 4 12,5	14	5×100	21 25 32 30 10	23,6	5×100	30 12,5 25 32 18	23,			
Ratte Nr. 120. Gew. 150 g. Kastrie- rung. Operiert l. am 2. 5., r. am 18. 5. Entblutet am 25. 5. Blutdruck vorher 157. nachher 138	5×100	20 12,5 25 24 32	22,7	100 100 100 80 50	30 30 25 25 20 20 8 10 2 4	17,8	5×100	30 20 30 10 16	21,2			
Ratte Nr. 130. Gew. 240 g. Operiert l. am 3. 6. + Kastrierung, operiert r. am 16. 6. Entblutet am 18. 6. Blut- druck vorher 160, nachher 150	5×100	15 20 10 8 12	13	5×100	20 30 15 16 10	18,2	5×100	22 30 20 25 18	23			
Ratte Nr. 131. Gew. 170 g. Operiert l. am 3. 6., r. am 16. 6. Entblutet am 18. 6. Blutdruck vorher 165, nachher 152	5×100	20 25 10 16 30	20,2	5×100	30 20 12 14 10	17,2	5×100	25 12 10 30 12	17,8			
Ratte Nr. 132. Gew. 150 g. Operiert l. am 3. 6. + Kastrierung, operiert r. am 16. 6. Entblutet am 18. 6. Blut- druck vorher 163, nachher 148	5×100	12 10 8 15 6	10,2	5×100	9 8 10 7 4	7,6	5×100	10 12 14 20 6	12,4			
Ratte Nr. 140. Gew. 180 g. Operiert l. am 12. 6., r. am 29. 7. Entblutet am 4. 8. Blutdruck vorher 165, nach- her 140	5×100	20 22 14 15 8	15,8	5×100	22 20 18 14 6	16	5×100	20 18 14 8 10	14			
Ratte Nr. 141. Gew. 140 g. Operiert l. am 12. 6., r. am 29. 7. Entblutet am 31. 7. Blutdruck vorher 170, nach- her 152	5×100	32 25 16 14 15	20,4	5×100	20 16 15 14 20	17	5×100	15 14 13 12 24	15,			
Ratte Nr. 142. Gew. 185 g. Operiert l. am 12. 6., r. am 29. 7. Entblutet am 1. 8. Blutdruck vorher 175, nach- her 130	5×100	16 18 20 24 30	21,6	5×100	22 24 15 12 10	16,6	5×100	10 8 6 4 12	8			
Ratte Nr. 143. Gew. 190 g. Operiert l. am 12. 6. + Kastrierung, operiert r. am 29. 7. Entblutet am 4. 8. Blut- druck vorher 170, nachher 140	5×100	10 8 6 12 9	7,5	5×100	16 12 8 3 10	9,4	5×100	20 12 15 8 6	12,4			
Ratte Nr. 144. Gew. 250 g. Operiert l. am 13. 6. + Kastrierung, operiert r. am 29. 7. Entblutet am 4. 8. Blut- druck vorher 168. nachher 132	5×100	22 25 24 18 9	19,6	5×100	16 12 15 8 7	11,6	5×100	12 8 12 22 18	13,8			

(Fortsetzung).

Körperbazillen											
nach 2 Stunden				nach 4 Stunden				nach 5 Stunden			
Anzahl der gezählten Leukozyten	davon haben gefressen	es haben ge- fressen in %	Durchschnitt- lich in %	Anzahl der gezählten Leukozyten	davon haben gefressen	es haben ge- fressen in %	Durchschnitt- lich in %	Anzahl der gezählten Leukozyten	davon haben gefressen	es haben ge- fressen in %	Durchschnitt- lich in %
5×100	20 25 24 18 30		23,4	5×100	10 5 8 14 15		10,4	5×100	5 5 5,7 10 7,5		6,8
5×100	10 12 14 15 8		11,8	5×100	22 19 20 18 15		18,8	5×100	23 14 10 8 12		13,4
5×100	20 18 16 15 12		16,2	5×100	22 30 20 15 16		20,6	5×100	30 25 25 20 16		23,2
5×100	30 25 40 20 10		25	5×100	25 20 12 20 10		17,4	5×100	10 20 30 10 8		15,6
5×100	4 12 5 3 8		6,4	5×100	12 8 10 15 4		9,8	5×100	21 14 10 12 5		12,4
5×100	14 12 8 12 4		10	5×100	24 16 14 8 6		13,6	5×100	20 18 15 10 8		14,2
5×100	20 14 10 12 10		13,2	5×100	18 20 14 18 10		16	5×100	10 12 10 8 12		10,4
5×100	9 8 7 6 5		7	5×100	10 12 14 4 10		10	5×100	18 12 9 8 10		11,4
5×100	20 16 18 12 8		14,8	5×100	4 2 6 10 14		7,2	5×100	12 8 6 5 3		6,8
5×100	12 18 25 17 8		16	5×100	5 12 20 5 4		9,2	5×100	16 12 10 8 4		10

Durchschnitt aus Milzbrand-Phagozytose von 6 Normalratten.

Kulturbazillen											
nach 2 Stunden				nach 4 Stunden				nach 5 Stunden			
Anzahl der gezählten Leukozyten	davon haben gefressen	es haben ge- fressen in %	Durchschnitt- lich in %	Anzahl der gezählten Leukozyten	davon haben gefressen	es haben ge- fressen in %	Durchschnitt- lich in %	Anzahl der gezählten Leukozyten	davon haben gefressen	es haben ge- fressen in %	Durchschnitt- lich in %
100	50	50	57,8	100	40	40	38,3	200	70	35	36,6
100	60	60		100	30	30		100	35	35	
200	40	20		100	40	40		100	40	40	
80	70	87,4		200	60	30		100	45	45	
80	50	63,2		200	50	25		100	35	35	
60	40	66,6		100	20	20		100	30	30	

erweitern. Die Phagozytose des Milzbrandbazillus weist, wie die Untersuchungen von Gruber und Futaki hauptsächlich dargetan haben, insofern eine Merkwürdigkeit auf, als die Phagozytose von kultivierten Bazillen in vitro von derjenigen in vivo dergestalt abweicht, daß sie keinen Schluß gestattet auf diejenige Phagozytose, welche sich im Tierkörper abspielt. Und zwar hängt dieses differente Verhalten der Milzbrandbazillen zusammen mit ihrem Vermögen der Kapselbildung, welches nun die derart ausgerüsteten Milzbrandbazillen auch außerhalb des Tierkörpers sich der Phagozytose entziehen läßt. Ein verschiedenes Verhalten der Körperbazillen und Kulturbazillen ist die Folge. Es bestand nun die Möglichkeit, daß auch im epinephrektomierten Tier sich ein Unterschied ergeben würde in der Phagozytose der Milzbrandbazillen (durch deren Leukozyten und Serum), je nachdem Körperbazillen oder Kulturbazillen verwandt wurden (Tab. 1, S. 116—119).

Ta

Doppelseitig operierte Ratten erhalten in die Jugularis je 1 ccm

Nr. 83 weibl., op. l. am 27. 11., op. r. am 4. 1. Gewicht am 27. 11. 180 g, Gewicht am 3. 1. 150 g	Nr. 84 männl., op. l. am 27. 11., op. r. am 4. 1. Gewicht am 27. 11. 180 g, Gewicht am 5. 1. 185 g	Nr. 85 männl., op. l. am 15. 1., op. r. am 19. 2. Gewicht am 15. 1. 195 g, Gewicht am 19. 2. 180 g	Nr. 81 männl., op. l. am 16. 1., op. r. am 19. 2. Gewicht am 16. 1. 190 g, Gewicht am 19. 2. 240 g	Nr. 82 männl., op. l. am 16. 1., op. r. am 4. 2. Gewicht am 16. 1. 150 g., Gewicht am 6. 2. 145 g
am 5. 1., † am 8. 1. Sektion: Milzbrand aus Milz und Leber isoliert. Milzbrandfäden ohne Kapsel	am 5. 1. † am 8. 1. Milzbrand aus strömenden Blut isoliert. Milzbrandfäden ohne Kapsel	am 21. 2. † am 22. 2. Sektion: Milzbrand aus Milz. Milzbrandfäden ohne Kapsel	am 20. 2. † am 23. 2. Sektion: Milzbrand aus Milz. Milzbrandfäden ohne Kapsel	am 6. 2. † am 8. 2. Sektion: Milzbrand in Organen und strömenden Blut. Milzbrandfäden ohne Kapsel
Gesunde Kontrollratte Nr. 1, männl. Gewicht 180 g, erhält am 16. 1. 1 ccm iv. desselben Anthrax-Stammes. † 19. 1. Milzbrand isoliert aus Blut, mit guten Kapseln	Kontrolle 2, weiblich. Gew. 170 g desgl. am 16. 1. † 19. 1. Milzbrand mit Kapseln in Organen	Kontrolle 3, männl. Gewicht 150 g, desgl. am 16. 1. † am 20. 1. Milzbrand mit Kapsel in Milz und Leber	Kontrolle 4, männl. Gewicht 160 g, desgl. am 16. 1. überlebt. 26. 1. Milzbrand mit Kapseln in strömendem Blut nachzuweisen	Kontrolle 5, weibl. Gewicht 175 g, desgl. am 16. 1. † 19. 1. Kein Milzbrand.

Tabelle I.

Versuchsanordnung wie oben (Tab. I)

Körperbazillen											
nach 2 Stunden				nach 4 Stunden				nach 5 Stunden			
Anzahl der gezählten Leukozyten	davon haben gefressen	es haben ge- fressen in %	Durchschnitt- lich in %	Anzahl der gezählten Leukozyten	davon haben gefressen	es haben ge- fressen in %	Durchschnitt- lich in %	Anzahl der gezählten Leukozyten	davon haben gefressen	es haben ge- fressen in %	Durchschnitt- lich in %
5×100	20		22	5×100	10		14	5×100	9		7
	20				10				8		
	30				20				2		
	30				10				10		
	10				20				6		

Es ergibt sich also, daß sowohl bei nebennierenlosen, wie auch nebennierenlosen und gleichzeitig kastrierten Ratten eine starke Herabsetzung der Phagozytose gegen Milzbrand stattfindet, unabhängig davon, ob Kultnr- oder Körperbazillen verwandt wurden.

Im Gegensatz zu anderen Erfahrungen konnten wir, in Bestätigung unserer früheren Ergebnisse eine Regeneration des Drüsengewebes nicht feststellen nach Herausnahme beider Nebennieren (chromaffines Gewebe bräunt sich auf Chrombetupfung in ganz kurzer Zeit). Ratten überleben nach Exstirpation beider Nebennieren höchstens 3—4, selten 5—7 Tage, eine Ueberlebensdauer, welche auch die vorher vorgenommene Kastration nicht verkürzt. Es konnte dies damit zusammenhängen, daß die Kapselbildung des Anthraxstammes, welche im Rattenserum sowieso schon schwach entwickelt ist, im Serum des epinephrektomierten Tieres eine weitere Hemmung erfährt und daß ferner,

belle II.

einer 10stünd. Anthraxbouillonkultur, und zwar

Nr. 89a weibl., op. l. am 16. 1., op. r. am 4. 2. Gewicht am 16. 1. 120 g, Gewicht am 4. 2. 120 g	Nr. 91 weibl., op. l. am 19. 1., op. r. am 11. 3., Gewicht am 19. 1. 150 g, Gewicht am 11. 3. 100 g	Nr. 92a weibl., op. l. am 20. 1., op. r. am 11. 2., Gewicht am 20. 1. 120 g, Gewicht am 11. 2. 110 g	Nr. 93 weibl., op. l. am 20. 1., op. r. am 11. 2., Gewicht am 20. 1. 130 g, Gewicht am 11. 2. 130 g	Nr. 94, männl. op. l. am 11. 2. „ r. „ 14. 2. Gewicht am 20. 1. 140 g, Gewicht am 13. 2. 130 g
am 6. 2. † am 12. 2. Sektion: Kein Milzbrand nachzuweisen	am 13. 3. † nach 2 Std. Sektion: ohne Befund	am 11. 2. † am 14. 2. Milzbrand in Haut, ohne Kapsel. Keine Allgemeininfektion	am 13. 2. † am 13. 2. Kein Milzbrand nachzuweisen	am 16. 2. † am 17. 2. Sektion: Milzbrand in Organen ohne Kapsel
Kontrolle 6, männl. Gew. 190 g, desgl. am 16. 1. † 22. 1. Kein Milzbrand				

Ta-

8 Ratten werden mit etwa dreiwöchigen Zwischenräumen doppelseitig epinephrektomiert im üblichen

	Nr. 86			Nr. 87			Nr. 88			Nr. 89		
	sofort	nach 4 Std.	nach 6 Std.	sofort	nach 4 Std.	nach 6 Std.	sofort	nach 4 Std.	nach 6 Std.	sofort	nach 4 Std.	nach 6 Std.
Typhus	247	—	—	620	3000	2100	326	1620	1210	165	1800	1100
Parat. B.	217	29	38	976	2480	1245	1800	2400	1950	210	2100	1725
Dysent.	460	1300	1400	2000	860	650	1750	2000	986	785	3000	1480
Pseudodys.	129	311	1550	800	600	400	600	300	200	172	1100	810
Milzbrand	.	.	.	1400	1200	1480	1600	1500	1700	1000	2100	1700
Streptok.

Bakterizidie des Serums normaler Ratten

	Kontrolle Nr. 1			Nr. 2 Serum Nr. 2 2 Tage alt			Nr. 3			Nr. 4		
Typhus	480	150	80	1374	2000	1800	285	890	142	980	102	140
Parat. B.	422	2500	182	.	.	.	1200	714	372	940	780	460
Dysent.	485	14	6	1210	3000	1002	1700	922	188	712	411	612
Pseudodys.	500	350	110	1540	3000	1550	890	840	110	1100	665	860
Milzbrand	1600	200	45	285	422	250	48	17	8	150	42	40
Streptok.	1450	2000	3000	.	.	.	50	12	3	75	110	115

trotz dieser Schutzlosigkeit, die zu erwartende Phagozytose ausblieb, da die bakteriziden Kräfte des Serums, welche bei der Anthrakozidie und auch anderen Keimen gegenüber eine ausschlaggebende Rolle spielen, durch die Beseitigung der Nebennieren (bzw. Nebennierenexstirpation + Kastration) gleichzeitig stark herabgesetzt sind. Zu dem Zwecke erhielten 10 doppelseitig operierte Ratten intravenös Milzbrandbouillonkultur eines kapselbildenden Milzbrandstammes, wovon 0,1 ccm bei intraperitonealer Darreichung weiße Mäuse in 14 Std. tötete (s. Tab. II, S. 120 u. 121).

Wir sehen also, daß die Fähigkeit der Kapselbildung in der epinephrektomierten Ratte verloren geht; von 10 Milzbrandinfizierten Ratten, denen vorher doppelseitig die Nebennieren entfernt waren, hatten 7 eine Milzbrandbazillenvermehrung in ihrem Blute und Organen, jedoch ohne Andeutung einer Kapselbildung, im Gegensatz zu den Normalratten. Die bakteriziden Versuche lassen wir hier folgen. Sie wurden mit dem Serum von folgenden doppelseitig operierten Ratten angestellt (Tab. III, S. 122 u. 123 oben).

Die keimtötende Kraft des Ratten-Normalserums gegenüber Anthrax ist bekanntlich ausgeprägt. Wir sehen, daß sie in der Typhus-Dysenteriegruppe nicht gleichmäßig ist, Typhusbazillen unterliegen der Bakterizidie, weniger jedoch Paratyphus B, Dysenterie- und Pseudodysenteriebazillen, Streptokokken werden schwach beeinflusst. Die Herabsetzung der Bakterizidie bei den nebennierenlosen Ratten ist vorhanden bei den meisten der untersuchten Keime, am ausgeprägtesten für Milzbrand, Typhus und Paratyphus. Von einigen Seiten ist bei Entfernung der Milz ein ungünstiger Verlauf der Milzbrandinfektion festgestellt worden an Hunden und Kaninchen (2), während von anderer Seite nicht nur eine höhere Empfänglichkeit für Milzbrand bei Entmilzung, vielmehr eine höhere Resistenz festgestellt wurde. Ebenso erhöht Blutentziehung allein nicht die Empfänglichkeit für Milzbrand bei Hunden. Aus unseren Befunden geht eine höhere Empfänglichkeit zur Infektion durch Entfernen eines Teiles des hormonalen Apparates hervor. Wir sehen hier zum Teil wenigstens eine experimentelle Bestätigung der Befunde bei Menschen, wo nicht selten eine höhere Empfänglichkeit für Infektionen bei dem Morbus Adisoni beobachtet worden ist. Die Beeinflussung der Antikörperbildung durch

belle III.

4 Tage nach der letzten Operation entblutet, ihr Serum gewonnen und nach 12 Std. geprüft
bakterizider Versuch:

Nr. 92			Nr. 101			Nr. 145			Nr. 146		
sofort	nach 4 Std.	nach 6 Std.	sofort	nach 4 Std.	nach 6 Std.	sofort	nach 4 Std.	nach 6 Std.	sofort	nach 4 Std.	nach 6 Std.
910	201	78	440	400	400	2000	3000	110	1200	1350	1400
1480	408	401	980	1100	1200	1600	3000	135	1000	1150	1100
1212	351	813	835	850	920	1150	29	98	2340	76	58
.	.	.	712	710	715	1450	28	101	2950	303	1480
.	.	.	82	180	375	482	480	444	510	480	420
.	.	.	965	1750	2000	144	211	680	120	135	122

Nr. 5

460	182	132
1200	740	440
900	146	338
840	92	109
64	37	14
50	19	2

Epinephrektomie, insoweit Agglutininbildung und Hämolysinbildung in Betracht kommen, wurde durch folgenden Versuch festgestellt (Tab. IV u. V).

Tabelle IV.
Agglutiningehalt normalen Rattenserums.

Ratten Nr.	Typhus	Dysenterie	Pseudodys.	Streptokokken
1	1:10 + 1:20 ±	1:10 —	1:10 + 1:20 ++	1:20 + 1:30 +
2	1:50 +	1:10 +	1:10 +	1:10 +
3	1:10 +	1:10 —	1:10 +	1:10 ++
4	1:10 +	1:10 —	1:10 +	—

Immunisierung normaler Ratten.

Je eine Ratte erhält am 15. 6. und 20. 6. 1 Oese Bakter. 1 Std. b. 56° abgetötet, am 22. 6. 2 Oesen Bakt. Aufschw. lebend subk. Entblutet am 25. 6. Serum geprüft am 26. 6.:

1 bis 4	1:50 +	1:500 +	1:200 +	1:40 +
5 bis 7	1:60 +	1:600 +	1:300 +	—
8 bis 10	1:80 +	1:700 +	1:400 +	1:50 +
11 bis 13	1:100 +	1:400 +	1:400 +	—
13 bis 16	1:200 +	1:300 +	1:300 +	1:20 +

Immunisierung doppelseitig epinephrektomierter Ratten.

12 weiße Ratten (von Durchschnittsgewicht 150 gr.) werden doppelseitig operiert, links am 14. 2., rechts am 17. 4. Nachdem die Operation gut überstanden, erhalten sie am 18. 4. ½ Oese Typhusbaz.-Aufschw. abgetötet. subk., am 20. 4. 2 Oesen lebend subk., am 25. 4. entblutet:

17	—			
18	1:20 +			
19	1:20 +			
20		1:100 +		
21		1:200 +		
22		1:400 +		
23			1:80 +	
24			1:100 +	
25			1:300 +	
26				1:40 +
27				—
28				1:30 +

Tabelle V.

		0.5 ccm Meersch.-Ser. 1:10 + 0.5 ccm 5% gewasch. Hammel- blut und Sera der epinephrekt. Ratten in Mengen von je 0,5 ccm und folgenden Verdünnungen				
		1:10	1:20	1:30	1:40	1:50
Hämolysingehalt normalen Rattenserums.						
Normale Ratte 1: erhält am 25. 6. ip. 4 ccm gewasch. Hammel-Erythrocyt. entblutet am 28. 6.		+++	+++	++	+	—
Normale Ratte 2: desgl.		+++	+++	++	—	—
Hämolysingehalt epinephrektomierter Ratten.						
Ratte Nr. 122 männl. 180 gr. oper. l. am 19. 5. + Kastrier. oper. r. am 21. 5.	erhält am 23. 5. je 4 ccm gewasch. konz. Hammel-Erythrocyt. ip. Entblutet am 26. 5. u. Serumsgewinnung.	+	—	—	—	—
Nr. 135. männl. 160 gr. oper. l. am 6. 6. + Kastrier. oper. r. am 23. 6.	behandelt desgl. am 25. 6., entblutet am 28. 6.	++	+	—	—	—
Nr. 136: weibl. 150 gr. oper. l. am 6. 6., oper. r. am 23. 6.	behandelt desgl. am 25. 6., entblutet am 28. 6.	+	+	—	—	—
Nr. 137: weibl. 165 gr. oper. l. am 9. 6., oper. r. am 23. 6.	behandelt desgl. am 25. 6., entblutet am 28. 6.	+	—	—	—	—
Nr. 138: männl. 170 gr. oper. l. am 9. 6., oper. r. am 23. 6.	behandelt desgl. am 25. 6., entblutet am 28. 6.	+	—	—	—	—
Nr. 139. weibl. 165 gr. oper. l. am 9. 6., oper. r. am 23. 6.	behandelt desgl. am 25. 6., entblutet am 28. 6.	+	—	—	—	—

+++ = Komplette H. ++ = Starke H. + = Spur H.

Wir sehen also durch die Beseitigung der Nebennieren eine Beeinträchtigung der Antikörperproduktion, wenigstens insoweit die Agglutinine (3) und Hämolysine in Betracht kommen. Am auffallendsten ist das Sinken des Titors bei der Typhus-Dysenteriegruppe, während es bei den Streptokokken weniger deutlich ist. Die Kastration allein ruft bei den Ratten keine nennenswerten Veränderungen in der Agglutinin- und Hämolysinbildung hervor. Es ergibt sich hieraus die Bedeutung der Nebennieren für die Antikörperbildung, welche durch das ausgedehnte Retikulo-Endothelsystem offenbar nur teilweise ersetzt werden kann, auch nicht durch das als Antikörperproduzent so wichtige lienale System (4) (Tab. VI, S. 125).

Resultat bei Epinephrektomie allein: mäßige Abnahme der Erythrozyten, seltener Zunahme derselben, starke Abnahme der Leukozyten (gezählt wurden 1000 Leukozyten), welche betrifft die großen lymphozytären Elemente, die Neutrophilen sowie die Monozyten. Die kleinen lymphozytären Elemente zeigen eine Vermehrung um das 3- bis 5fache, vielfach sind auch die Eosinophilen gering vermehrt.

Resultat bei Epinephrektomie + Kastration: die Kastration läßt dieses Bild noch schärfer hervortreten, insofern auch die großen lymphozytären Elemente Anteil haben an der relativen Vermehrung.

Ein rapides Absinken der Roten, wie es bei Splenektomie beobachtet worden ist bis auf 2—1 Mill. tritt bei Epinephrektomie nicht ein, ebensowenig

Tabelle VI.
Das Blutbild nebennierenloser (und kastrierter) Ratten.

Nr.	Wie viel Tage nach den Operationen	Erythrozyten	Leukozyten	Lymphozyten Proz.			Neutrophile Proz.			Eosinophile Proz.			Monozyten Uebergangsformen Proz.	Blutplättchen
				Große	Kleine	Insgesamt	Stabkernige	Segmentkernige	Insgesamt	Stabkernige	Segmentkernige	Insgesamt		
a) Kontrollen aus 12 Normalratten.														
		6 146 000	34 000	39,1	19,2	56,3	12	21,9	33,9	1	1,2	5,6	—	502 566
b) Blutbild nebennierenloser Ratten.														
86	1	6 020 000	40 000	16	61	77	10	11	21	2	.	2	—	200 000
87	3	4 600 000	6 560	3	89	92	3	4	7	.	1	1	—	155 000
88	4	5 700 000	6 874	5	94	99	1	.	1	—	—	—	—	230 000
89	7	7 040 000	5 625	18	73	91	4	4	8	1	.	1	—	225 000
92	4	4 835 000	10 000	13	85	98	1,6	.	1,6	0,4	.	0,4	—	250 000
101	5	4 400 000	14 375	30	42,5	72,5	18	7	25	1	1	2	0,5	120 000
91	1	1 430 000	11 250	24	58	82	7	7	14	1	—	1	3	—
93	2	4 425 000	8 258	4,4	90	94,4	3	1	4	—	1	1,6	—	110 000
94	3	8 720 000	8 125	2	82	84	8	7,5	15,5	1	—	1	—	170 000
95	7	5 790 000	12 148	24	64	88	1	6	7	—	4	4	1	260 000
96	2	8 120 000	5 625	12	78	90	1	8	9	—	1	1	—	75 000
116	3	5 200 000	4 500	12	83	95	5	—	5	—	—	—	0,5	175 000
117	6	6 065 000	8 437	17,5	79	96,5	—	2	2	0,5	—	0,5	1	150 000
118	4	5 455 000	3 750	20	77,5	97,5	—	1,5	1,5	—	—	—	1	310 000
119	4	6 000 000	5 937	6,5	88,5	95	2,5	2	4,5	—	0,5	0,5	—	100 000
131	5	3 415 000	10 000	8	83,5	91,5	2,5	3	5,5	0,5	0,5	1	2	50 250
133	4	4 200 000	8 200	9	78	87	7	5	12	1	—	1	—	190 000
134	3	5 100 000	7 200	8	85	93	7	—	7	—	—	—	—	230 000
141	2	5 735 000	12 812	3	88	91	1,5	7	8,5	0,5	—	0,5	—	245 000
140	4	6 195 000	10 000	7	77,5	84,5	1	11,5	12,5	1,5	1,5	3	—	482 500
65	1	4 900 000	5 000	11	81	92	4	3	7	1	—	1	—	225 000
66	1	12 100 000	7 500	14	78	92	4	2	6	2	—	2	—	200 000
c) Blutbild nebennierenloser und kastrierter Ratten.														
106	6	3 870 000	7 312	15	69	84	5	5	10	4	2	6	—	195 000
107	6	3 575 000	4 750	34,5	59,5	94	2	3	5	—	0,5	0,5	0,5	190 000
111	4	3 070 000	20 937	20	58	78	2	18	20	1	—	1	1	130 000
112	4	3 620 000	4 687	33	47	80	10	7	17	3	—	3	—	110 000
114	3	4 050 000	9 683	30	62	92	1	8,6	9,6	—	—	—	2	95 000
115	5	2 165 000	5 937	10	85	95	2	2	4	—	—	—	1	115 000
120	7	5 770 000	10 937	5,5	86	91,5	4	2,5	6,5	—	0,5	0,5	1,5	300 000
130	2	5 870 000	14 062	18,3	71,3	89,6	6	2	8	1,3	.	1,3	1	265 000
132	3	4 495 000	9 062	14,5	65	79,5	8	4	12	4	4	8	0,5	255 000
142	2	5 240 000	8 125	14	75	89	5	2,5	7,5	—	1,5	1,5	2	270 000
144	2	4 585 000	5 312	9,5	71,5	81	12	6	18	1	—	1	—	280 000
143	1	5 000 000	6 562	18	65	83	10	2	12	3	2	5	—	302 500
d) Blutbild kastrierter Ratten.														
147	10	6 855 000	6 875	20	50,6	70,6	—	27	27	—	2	2	0,4	100 000
148	10	6 725 000	10 000	17	63,5	80,5	—	18,5	18,5	—	—	—	1	110 000
149	10	Normoblasten 3 890 000	80 000	22,5	72,5	95	—	4	4	—	0,5	0,5	0,5	80 000
		Normoblasten												
A	300	5 885 000	8 600	18	44	62	4	28	32	1	1	1	4	310 000
B	300	6 000 000	9 000	12	56	68	3	24	27	—	—	—	5	275 000
C	300	6 200 000	20 000	10	58	68	5	18	23	1	2	3	5	255 000
D	300	5 900 000	12 000	10	57	58	6	17	23	2	1	3	6	240 000
H	300	5 600 000	6 200	16	64	80	2	14	16	2	—	2	2	270 000
I	300	4 800 000	7 200	11	75	86	—	9	9	1	1	2	3	295 000
J	300	6 855 000	6 875	20	50,6	70,6	—	27	27	—	2	2	0,4	100 000

bei Epinephrektomie + Kastration. Auch Myelozyten wurden nicht beobachtet. Die Kastration ruft bei den Ratten im wesentlichen das gleiche Bild hervor wie bei den nebennierenlosen Tieren. Normoblasten traten vereinzelt auf. Die Blutplättchenzahl war in allen Fällen bedeutend vermindert.

Die Störung des endokrinen Apparates ruft also eine Umwälzung des Blutbildes hervor, zunächst durch eine Leukopenie der Neutrophilen, bei einer Lymphozytose der kleinen, später auch der großen Lymphozyten. Stört man den hormonalen Apparat, sowohl durch Entfernung der Nebennieren wie auch der Hoden, stellt sich immer mehr eine Vermehrung der einkernigen Neutrophilen, eine Linksverschiebung des weißen Blutbildes ein, wie wir es auch bei schweren Infektionskrankheiten haben (5). Es läßt sich also neben Blutdrucksenkung auch das Blutbild experimentell, teilweise wenigstens, reproduzieren, wie es zur Symptomatologie der Addison'schen Krankheit gehört, wo die Lymphozytose charakteristisch ist (6).

Die Thrombopenie war am deutlichsten ausgeprägt nach doppelseitiger Epinephrektomie, sie erreichte Werte, die den 10. Teil der ursprünglichen Normalzahl, häufig den 5. Teil derselben betrug. Starkes Sinken der Blutplättchen

Tabelle VII.

Nebennierenextrakt-Behandlung.

Nach der doppelseitigen Epinephrektomie, subk. Injektion von $2 \times 0,5$ und $1 \times 1,0$ Nebennierenextrakt. Sodann erhalten die Ratten ip. Ratinbouillonkultur (Stamm Bahr 578).

				Kontrollen	
Nr. 116. Gewicht 130 g. Operiert l. am 2. 5., r. am 9. 5. Blutdruck vorher 175 cm H ₂ O, nachher 135 cm H ₂ O, nach drei Injektionen Nebennierenextrakt 160 cm	am 8. 5. Nebennierenextr. subk. 0,5, am 9. 5. Nebennierenextr. subk. 0,5, am 11. 5. Nebennierenextr. subk. 1,0	am 11. 5. infiziert ip. mit 0,2 ccm Ratinbouillon	† 13. 5. Ratinbazillen in Reinkultur aus Milz und Leber	Nr. 65. Gewicht 120 g. Operiert l. am 1. 4., r. am 1. 5. Blutdruck vorher 170 cm H ₂ O, nachher 140 cm H ₂ O	erhält am 3. 0,5 ccm Ratinbouillon ip. am 8. 5. Ratsepsis
Nr. 119. Gewicht 150 g. Operiert l. am 2. 5., r. am 18. 5. Blutdruck vorher 157 cm H ₂ O, nachher 125 cm H ₂ O, nach vier Injektionen Nebennierenextrakt 150 cm	am 17. 5. Nebennierenextr. subk. 0,5, am 18. 5. Nebennierenextr. subk. 0,5, am 19. 5. Nebennierenextr. subk. 1,0, am 20. 5. Nebennierenextr. subk. 1,0	am 20. 5. infiziert ip. mit 0,2 ccm Ratinbouillon	† 22. 5. Ratinbazillen in Reinkultur in Milz	Nr. 66. Gewicht 150 g. Operiert l. am 1. 4., r. am 1. 5. Blutdruck vorher 165 cm H ₂ O, nachher 142 cm H ₂ O	erhält am 3. 0,5 ccm Ratinbouillon ip. am 7. 5. Spärliche Färbung in Milz
Nr. 133. Gewicht 155 g. Operiert l. am 3. 6., r. am 23. 6. Blutdruck vorher 170 cm H ₂ O, nachher 145 cm H ₂ O, nach vier Injektionen Nebennierenextrakt 165 cm	am 22. 6. Nebennierenextr. subk. 0,5, am 23. 6. Nebennierenextr. subk. 0,5, am 24. 6. Nebennierenextr. subk. 1,0, am 25. 6. Nebennierenextr. subk. 1,0	am 25. 6. infiziert ip. mit 0,5 ccm Ratinbouillon	† 27. 6. Ratinbazillen aus Herzblut u. Organen		
Nr. 134. Gewicht 150 g. Operiert l. am 6. 6., r. am 23. 6. Blutdruck vorher 160 cm H ₂ O, nachher 135 cm H ₂ O, nach vier Injektionen Nebennierenextrakt 55 cm	am 22. 6. Nebennierenextr. subk. 0,5, am 23. 6. Nebennierenextr. subk. 0,5, am 24. 6. Nebennierenextr. subk. 1,0, am 25. 6. Nebennierenextr. subk. 1,0	am 25. 6. infiziert ip. mit 0,5 ccm Ratinbouillon	† 26. 6. Ratinbazillen in Milz u. Leber		

wird auch erreicht durch Epinephrektomie + Kastration, oder durch Kastration allein. Es scheint hier also gleichzeitig eine Abhängigkeit der Thrombozyten von den Drüsen mit innerer Sekretion zu bestehen, welche man auch bei dem Einsetzen der weiblichen menses (7) verschiedentlich beobachtet hat, oder bei der sogenannten Angina agranulocytotica, welche mit dem Schwund der neutrophilen polymorphkernigen Leukozyten verläuft, und, worauf Bingel hinwies, bei einem Ovarialtumor, welcher mit hochgradiger Polyzytämie begleitet war.

Verschiedentlich ist versucht worden (8), durch intravenöse oder subkutane Injektion von Nebennierenextrakt den Ausfall der Marksubstanzsekretion an Adrenalin zu kompensieren. Es sollte das Allgemeinbefinden der nebennierenlosen Ratten wesentlich gehoben haben, während eine nennenswerte Lebensverlängerung durch diese Substitutionstherapie nicht beobachtet worden ist. An einigen doppelseitig operierten Ratten haben wir die Zufuhr von Nebennierenextrakt versucht, bei gleichzeitiger Infektion.

Nebennierenorgan-Extraktbereitung. Die Nebennieren werden verrieben und zerquetscht im Mörser, mit etwa der 10fachen Gewichtsmenge 0,25proz. Essigsäurelösung. 1 Minute aufkochen lassen. Abfiltrieren. Mit NaOH neutralisieren bis Lackmusneutralpunkt. Hinzufügen von physiol. NaCl-Lösung im Verhältnis 1:5 (Tab. VII, S. 126).

Es ergibt sich also wohl eine merkliche Hebung des Blutdruckes, jedoch ohne Beeinflussung des Blutbildes. Die Herabsetzung der Resistenz wird durch vorherige Zufuhr von Nebennierenextrakt nicht beeinflusst. Die Ratten starben

Tabelle VIII.

Normalratten Nr.	Interferometerwerte			Temperatur des Wasser- bades
	Erste Ablesung	Zweite Ablesung (nach 1 Std.)	Durchschnitt J. W.	
1	1580	1628	1604	17°
2	1565	1602	1563	17°
3	1486	1500	1493	17°
4	1484	1510	1497	17°
5	1600	1530	1565	17°
6	1506	1509	1507	16,5°
7	1610	1615	1612	16,5°
8	1595	1597	1596	17°
9	1450	1492	1471	17°
10	1546	1540	1543	16,5°
Epinephrektomierte Ratten				
100, einseitig. (Serum gewonnen 17 Tage post operat.)	1475	1423	1449	17°
98, einseitig. (10 Tage post operat.)	1400	1398	1399	17,5°
170, zweiseitig. (5 Tage post operat.)	1200	1300	1250	17°
177, zweiseitig. (5 Tage post operat.)	962	800	881	17°
110, zweiseitig. (7 Tage post operat.)	1374	1385	1379	17°
Kastrierte Ratten				
A (8 Tage post operat.)	1618	1687	1652	16,5°
B (8 " " " "	1613	1610	1611	17°
C (8 " " " "	1682	1692	1687	16,5°
H (8 " " " "	1552	1585	1568	17°
I (8 " " " "	1515	1522	1518	16°
J (8 " " " "	1511	1517	1514	17°

nach der Nebennierenexstirpation mit Extraktgaben sogar teilweise merklich früher als Tiere mit einfacher Nebennierenexstirpation.

Die Epinephrektomie, mit oder ohne Kastration ruft, wie wir sahen, tiefgehende Störungen im Blute und Abwehrmechanismus der Ratten hervor.

Wir haben versucht, festzustellen, ob sich etwa auch interferometrisch in den Seren der endokrin geschädigten Ratten Abweichungen von den Normalwerten feststellen lassen.

Wir bedienten uns hierzu eines Zeißschen Flüssigkeitsinterferometers, wie er in den serologischen Untersuchungen von W. Bachmann (9) eingehend beschrieben worden ist. Die Sera, vor der Hauptfütterung der Tiere entnommen, waren weder chylös noch hämolytisch, und wurden frisch 14 Std. nach der Entblutung der Tiere geprüft, möglichst vor Verdunstung geschützt. Die Untersuchungen sind in der 5 mm Kammer ausgeführt, bei möglichst konstanter Temperatur der Aqua dest. — Temperierflüssigkeit. Geprüft wurde gegen Aqua dest.

Es sollen hier die Interferometerwerte (I. W.) zunächst normalen Ratten-serums folgen, sodann des Serums von Ratten, denen entweder eine, oder beide Nebennieren in längeren Abständen, oder auch die Hoden entfernt worden waren (Tab. VIII, S. 127).

Verglichen mit zahlreichen Normalseren, zeigen offenbar die Seren der nebennierenlosen Ratten durchwegs niedrigere Werte. Diese I. W. liegen außerhalb der Normalschwankungen an + oder — Trommelstrichen, welche wir in jedem Serum anzutreffen gewohnt sind.

Daß nicht etwa die Operation als solche, Blutverlust usw., die Schwankungen allein bedingt, dafür scheinen die Seren der kastrierten Ratten zu sprechen, welche fast nach gleichen Zeiten entnommen diese Erniedrigung der I. W. nicht aufweisen.

Zusammenfassung.

1) Bei epinephrektomierten Ratten findet sich eine starke Herabsetzung der Phagozytose für Milzbrandbazillen. — 2) Diese ist unabhängig davon, ob Kultur- oder Körperbazillen verwandt werden. — 3) Die Fähigkeit der Kapselbildung geht im epinephrektomierten Rattenkörper verloren. — 4) Gleichzeitige Kastration übt keinen weiteren Einfluß aus. — 5) Starke Herabsetzung der bakteriziden Antikörper für die meisten der untersuchten Keime geht damit Hand in Hand. — 6) Die Störung des endokrinen Apparates ruft eine typische Umwälzung des Blutbildes hervor, im Sinne einer Leukopenie der Neutrophilen, einer Lymphozytose und einer Thrombozytopenie. — Die Ansicht daß die milzbrandfeindliche Serumwirkung nicht unwesentlich mit dem Plakin der Blutplättchen zusammenhängt, erfährt dadurch eine Stütze. — 7) Ein Teil der klinischen Befunde, welche die Zerstörung der Nebennieren begleiten, läßt sich also auch experimentell reproduzieren. — 8) Während die Kastration keine nennenswerten Veränderungen in der Agglutinin- und Hämolsinbildung hervorruft, werden diese durch Nebennierenbeseitigung ganz wesentlich geschädigt. — 9) Der Ausfall der Nebennieren kann durch rechtzeitige Darreichung von Nebennierenextrakt nicht ausgeglichen werden. — 10) Die Seren von epinephrektomierten Ratten scheinen durchwegs niedrigere Interferometerwerte aufzuweisen, als Normalseren.

Literatur.

1) Seitz, A., Centralbl. f. Bakt. Bd. 93. H. 1/4. — 2) Sobernheims Literatur im Kap. Milzbrand, Kolle-Wasserm. Handb. Bd. 3. S. 624. — 3) Jaffe, Henry u. Marine, Dav., Proceedings Soc. for exp. Biol. Bd. 21. S. 64. — 4) Bieling, Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 38. H. 3/4. — 5) Drychno, M., Zeitschr. f. Hyg. Bd. 101. S. 203. — 6) Strümpell, Lehrb. d. inner. Med. Bd. 2. S. 322. — 7) Henning, Norb., Dtsch. med. Wochenschr. 1924. Nr. 32. — Maurer, Diez u. Berendt, Klin. Wochenschr. 4. Jahrg. Nr. 39. — 8) Szymonowicz, W., Anzeiger d. Akad. d. Wissenschaften in Krakau, 1895. H. 1. — 9) Bachmann, W., Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 33. H. 6; Bd. 35. H. 6.

Nachdruck verboten.

Kann durch Darreichung von Narkotieis eine positive Wassermann-Reaktion oder Meinickes Trübungsreaktion im Serum vorgetäuscht oder zum Verschwinden gebracht werden?

[Aus dem Hygienisch-Bakteriologischen Institut der Universität Jena
(Direktor: Geh.-Rat Prof. Dr. Abel).]

Von Dr. **F. Weyrauch.**

Wenn man sich klarmacht, daß sowohl die Wassermannreaktion (WaR.), als auch die Trübungs- und Flockungsreaktionen nicht streng spezifisch für Lues sind, sondern nur Aenderungen im Lipoidstoffwechsel anzeigen, so erscheint es nicht unwahrscheinlich, daß Narkotika, deren Wirkung nach der Narkosetheorie von Overton und Meyer auf ihrer Affinität zu den Lipoiden des Körpers beruht, unter Umständen die Serumreaktionen auf Syphilis beeinflussen können.

Die hier angeschnittene Frage interessiert, wie wir später sehen werden, in mehrfacher Hinsicht. Sie hat auch schon Anlaß gegeben zu einigen Untersuchungsreihen, über die zunächst kurz berichtet werden soll. Die von den Autoren verwandten Narkotika sind Alkohol, Paraldehyd und Amylenhydrat, Aether und Chloroform.

1) Alkohol: Craig und Nichols (1) beobachteten in 9 Luesfällen ein Negativwerden der vorher ausgesprochen positiven WaR. nach dem Genuß großer Alkoholmengen (240 ccm Wisky oder 700 ccm Münchener Bier oder 80 ccm 95 Proz. Alkohol, die sie ihren Patienten während eines Tages eingaben). Dieses negative Stadium erstreckte sich auf einige Stunden bis zu 3 Tagen, während sich nachher in jedem Falle wieder eine positive Reaktion einstellte. Hough (2) hat diese Versuche wiederholt, und zwar an 5 Fällen von Dementia paralytica und 4 Fällen von Lues. Bei 3 von den 5 Paralytikern wurde die WaR. gar nicht gestört, ein Fall war nur wenig beeinflusst, einer wurde jedoch fast negativ. Von den 4 Luesfällen (Gehirnlues wurden nur 2 schwach beeinflusst. Hough hatte also deutlich weniger Ausschläge als Craig und Nichols, er experimentierte jedoch nur mit Fällen von Syphilis des Zentralnervensystems und hat, was seine Technik anbetrifft, mit inaktiviertem Serum gearbeitet, während Craig und Nichols dieses in aktivem Zustand verwandt haben.

2) Paraldehyd und Amylenhydrat: Die dem Alkohol ähnliche Wirkungsweise des Paraldehyds und dessen chemische Verwandtschaft mit dem Alkohol veranlaßten Fuchs (3) die Einwirkung von Paraldehydgaben auf die WaR. zu untersuchen. Er wandte die Originalmethode von Wassermann an. Seine Fälle umfassen 12 Paralysen und 4 Psychosen auf luetischer Basis. Von diesen 16 Fällen blieben nur 6 unbeeinflusst durch die Paraldehydgaben. Bei letzteren handelte es sich um vorgeschrittene Paralysen. In den übrigen Fällen war die vorher positive WaR. mehr oder weniger abgeschwächt. In 2 Fällen ohne Beteiligung des Nervensystems wurde die vorher komplette Hemmung in eine komplette Hämolyse verwandelt. Die Arbeit von Fuchs wurde von Maaß (4) nachgeprüft. Maaß sah bei 24 positiven Seren bei quantitativer Serumabstufung zehnmal Abschwächung nach Gaben von Paraldehyd und Amylenhydrat. In 6 Fällen war sie praktisch unwesentlich, nämlich nur in der stärksten Verdünnung der Seren. Nur 2mal trat in der schwächsten Verdünnung halbe Hämolyse ein. Die Abschwächung bauerte gewöhnlich 1—3 Tage, nur 1mal 14 Tage.

3) Aether, Chloroform: Wolfsohn (5) berichtete als erster, daß von 50 Narkosesiseren 13, also 22 Proz. mehr oder weniger positiv reagierten. (3 waren stark positiv, 2 weniger stark, die übrigen nur schwach positiv). Die Narkose war ausgeführt mit Aether, jedoch war am Abend vorher 0,5 Veronal und eine halbe Stunde vor der Operation 0,01 Morphin und 0,0008 (bei Frauen 0,0005) Skopalamin gegeben worden. In 2 Fällen lag Syphilis vor und die Untersuchung einige Tage nach der Narkose fiel ebenfalls stark positiv aus. In allen übrigen 11 Fällen waren die Kontrollen einige Tage nach der Operation einwandfrei negativ. Reicher (6) bestätigte diese Befunde (ohne Zahlenangaben). Auch Boas und Petersen (7) schließen sich an, denn sie fanden bei 60 teils mit Chloroform, teils mit Aether narkotisierten Patienten in 3 Fällen positive Reaktionen, die nach 1 Woche wieder geschwunden waren. Zu anderen Ergebnissen jedoch kam Sonntag (8), der 100 Narkosesiseren auf möglicherweise unspezifisch positive Reaktion prüfte. Es handelte sich dabei um Mischnarkosen mit Aether (vorwiegend!) und Chloroform, bisweilen auch um reine Aether-, Chloräthyl- oder Chloroformnarkosen, in manchen Fällen war Veronal oder Morphin bez. Morphin-Skopalamine oder Morphin-Atropin vorgegeben. Sonntag stellte nun fest, daß Narkosesiseren bei der WaR. nicht unspezifisch reagieren; die gegenteiligen Behauptungen seien wahrscheinlich auf Uebersehen gleichzeitiger Lues oder auf mangelhafte Methodik zurückzuführen. Ein vereinzelter Vorkommen schwacher Ausschläge will er freilich angesichts der Beobachtungen zuverlässiger Untersucher als möglich zugeben. Geprüft wurde mit der Originalmethode nach Wassermann.

Es sollen also nach Alkohol-, Paraldehyd- und Amylenhydrat-Gaben Änderungen der WaR. in negativer, nach Aether und Chloroform Änderungen in positiver Richtung erfolgen (letzteres wird allerdings von Sonntag bestritten). Die hier aufgeführten Narkotika sind sämtlich Verbindungen der Fettreihe (Methanderivate), also chemisch eng verwandte Körper. Äthylalkohol ist das 1. Oxydationsprodukt des Äthans, Äthyläther ist das Anhydrit des Äthylalkohols, Paraldehyd ist polymerer Äthylaldehyd, der seinerseits 1. Oxydationsstufe des Äthylalkohols ist. Amylenhydrat ist tertiärer Amylalkohol, Chloroform ist Trichlormethan. Diese Narkotika haben im Prinzip alle die gleiche Wirkung, deren Erklärung in der Meyer-Overtonschen Lipoidtheorie gegeben ist. Es ist also nicht einzusehen, warum sie gänzlich verschieden auf die WaR. einwirken sollten, und vor allem ist es nicht angängig, die gleiche Meyer-Overtonsche Theorie zur Erklärung für zwei entgegengesetzte Phänomene heranzuziehen, wie das Wolfsohn für das Positivwerden der WaR. nach Aether, Fuchs für das Negativwerden nach Paraldehydgaben tun. Wolfsohn gibt keine näheren Erläuterungen; Fuchs nimmt an, daß „Alkohol und Paraldehyd die Lipoide, id est die Antigene, verändern, so daß der auf diese umgeänderten Antigene nicht eingestellte Antikörper sich nicht mit ihnen verbinden kann.“ Reicher sagt, daß es bei der Narkose zur Ausstoßung lebenswichtiger Lipoide und Fette komme, die das Positivwerden der WaR. bewirken. Unseres Erachtens sind diese Erklärungsversuche nicht ausreichend.

Abgesehen von der praktischen Wichtigkeit dieser Frage hinsichtlich einer Fehlerquelle der WaR., liegt ihre Bedeutung aber auch auf theoretischem Gebiet, woraus allerdings ebenfalls wieder praktische Folgerungen gezogen werden können: sie berührt nämlich das Problem des Wesens der syphilitischen Blutveränderung. Hier sind bisher 2 Anschauungen vertreten worden: entweder handelt es sich bei den Luesreaginen um echte Antikörper — Autoantikörper gegen arteigene, im Verlauf der Krankheit freiwerdende Lipoide oder Lipoidantikörper gegen bestimmte Eiweißlipoidkomplexe der Syphilis-spirochäten — oder es sind lediglich ins Blut übergetretene gelöste Gewebszerfallsprodukte lipoidreicher Organe. Es bestand also nach Sachs²⁾ „für das Denken die Alternative, ob man den serologischen Luesnachweis als direkten Ausdruck charakteristisch veränderten Stoffwechsels oder als dessen indirekte Folge auffaßt. So geringfügig der Unterschied vielleicht auch auf den 1. Blick erscheinen mag, so dürfte es für die praktische Bewertung nicht gleichgültig sein. Denn auch bei dieser Art der Betrachtung wäre die therapeutische Be-

deutung der WaR. zweifellos größer, wenn sie der direkte Ausdruck des pathologischen Geschehens ist, als wenn sie nur indirekt den Ausdruck der sekundären biologischen Reaktion darstellt. Ist die WaR. nur der Ausdruck der Reaktionsprodukte, der Antikörper, so können nach dem bisherigen Standpunkt der Immunitätslehre die Zellen völlig ausgeheilt, das Virus beseitigt sein, und trotzdem die Antikörperbildung mehr oder weniger lange persistieren. Es könnte uns also dann die positive WaR. nicht ohne weiteres ein Zeichen dafür sein, daß die Infektion oder die Erkrankung noch besteht, sondern nur dafür, daß sie gewesen ist. Ist aber die Blutveränderung, die wir durch die WaR. nachweisen, ein unmittelbares Symptom der syphilitischen Gewebsveränderung, dann ergibt sich eben rein logisch die reziproke Schlußfolgerung, daß der Organismus so lange krank ist, als er einen positiven Wassermann hat.“

Darin liegt die Bedeutung dieser Fragestellung, die neuerdings durch Arbeiten von Sachs, A. Klopstock und Weil (10) anscheinend zu einer endgültigen Entscheidung kommt. Diese Autoren fanden nämlich, daß es durch systematische Vorbehandlung von Kaninchen mit Gemischen von alkoholischen Kaninchennierenextrakten und Schweineserum mit großer Regelmäßigkeit gelingt, das Serum der Versuchstiere so zu verändern, daß es bei der WaR., S. G. R. und M. T. R. stark positiv reagiert, während die isolierte Injektion beider Komponenten unter sonst gleichen Bedingungen unwirksam ist. Daraus schließen die genannten Autoren, daß die syphilitische Blutveränderung einer Autoantikörperbildung ihre Entstehung verdankt. Sie sehen das tertium comparationis zwischen ihrer Versuchsanordnung und den Geschehnissen bei der syphilitischen Reaktion in der Artfremdheit des Schweineserums bzw. der Spirochaeten, die geeignet ist, die Antigenfunktion der durch Alkoholextraktion freigewordenen oder bei dem syphilitischen Krankheitsprozeß freiwerdenden Lipoiden in Erscheinung treten zu lassen. F. Klopstock (11) erhielt eine positive WaR. bei Kaninchen nach Injektion von Suspensionen abgetöteter Spirochäten und hält die Syphilisreagine für Spirochätenlipoidantikörper.

Was die Vertreter der Hypothese betrifft, daß die Luesreagine lediglich gelöste, ins Blut übergetretene Organsubstanzen seien, so stützen sie sich hauptsächlich auf die Beobachtungen von Wolfsohn und Reicher (l. c.), die eine vorübergehend positive WaR. nach der Narkose fanden. Durch die Wirkung von Lipoidsolventien, wie sie die Narkotika darstellen, soll vorübergehend eine bestimmte Menge normaler Zellipoide in das Blut übertreten, welche sich zu den im Versuch benutzten Extraktmengen hinzuaddieren, so daß die zulässige, d. h. mit Normalserum negativ reagierende Extraktdosis überschritten wird. (S. Baumgärtel (12)).

Wir sahen oben, daß die Befunde Wolfsohns und Reichers von Sonntag nicht bestätigt werden konnten. Bei der Wichtigkeit der Frage hielten wir weitere Prüfungen für erwünscht, und zwar unter Hinzuziehung der Meinickeschen Trübungs-Reaktion (M.T.R.), die ja empfindlichere Ausschläge gibt als die WaR. Bei dieser Gelegenheit beschlossen wir, auch die Ergebnisse der Autoren, die eine Abschwächung der WaR. nach Darreichung von Narkotieis sahen, einer Nachprüfung zu unterziehen, und zwar ebenfalls unter gleichzeitiger Verwendung der M.T.R.

Die Versuche wurden nach der vom Reichsgesundheitsrat beschlossenen „Anleitung zur Ausführung der WaR.“ (siehe „Volkswohlfahrt“ 1920, S. 286) angestellt. Das Komplement kam nur in 10facher Verdünnung zur Verwendung (siehe ergänzende Bestimmungen in „Volkswohlfahrt“ 1923, S. 406). Diese staatlichen Bestimmungen bedingen bekanntlich keine besonders scharfe Einstellung der WaR., worin ein Grund für das unvermeidliche Auftreten sogenannter „paradoxe Reaktionen“ erblickt wird, d. h. verschiedener Reaktions-

ausfälle, die derselbe Untersucher mit demselben Serum an verschiedenen Versuchstagen bekommt. Es ist daher unerlässlich, daß die zu vergleichenden Seren an demselben Tage untersucht werden (das gilt besonders für Seren mit geringer Komplementbindungsfähigkeit). Wir haben diese Bedingung streng eingehalten, während dies aus den Protokollen der oben angeführten Autoren häufig nicht hervorgeht, so daß die unvermeidlichen Schwankungen in der Einstellung der WaR. an verschiedenen Tagen hier möglicherweise zu Täuschungen führen konnten. Daß sich Schwankungen in der Stärke des positiven Ausfalls bei Entnahme zu verschiedenen Tageszeiten zeigen könnten, ist wohl noch niemals behauptet worden. Wir haben aber, um diesbezüglichen Einwänden zu begegnen, ein paar derartige Stichproben gemacht, jedoch keine Unterschiede zwischen einem abends und einem morgens entnommenen Serum desselben Patienten finden können.

Wie oben schon angedeutet zerfällt die Arbeit in zwei Teile: I. Untersuchung von Seren aus der Chirurgischen Universitätsklinik, die vor und nach einer Aethernarkose entnommen wurden. II. Untersuchung von Seren aus der Psychiatrischen Universitätsklinik, die am Abend vor und am Morgen nach einer größeren Paraldehydgabe entnommen worden waren. In Teil I handelt es sich um vorher negative, in Teil II um vorher positive Seren.

I. Narkoseseren.

Die Dauer der Narkose war verschieden lang; vorher war gewöhnlich Morphinum gegeben worden. Wir haben im ganzen 40 Fälle untersucht. Bei den ersten 20 wurde die zweite Entnahme kurz nach der Narkose, bei den übrigen 2 Tage nach der Narkose vorgenommen. Es zeigte sich nicht die leiseste Beeinflussung negativer Seren durch die Narkose, was sowohl durch das Ergebnis der WaR., als auch durch das der empfindlicheren M.T.R. ausgedrückt wird. Da unsere 40 Fälle völlig gleichsinnig ausfielen, und wir uns außerdem in Einklang befinden mit den Ergebnissen von Sonntag (100 Fälle), glaubten wir von der Untersuchung weiterer Narkoseseren absehen zu können.

II. Paraldehydseren.

Nr.	Name	WaR.		M.T. R.		Differenz	
		vorher	nachher	vorher	nachher	WaR.	M. T. R.
1	Lu	2	1	4	4	1	0
2	Gra	4	4	4	4	0	0
3	Schö	4	4	4	4	0	0
4	Bü	4	4	4	4	0	0
5	Ma	1	—	—	—	1	0
6	Sta	2	—	2	2	2	0
7	Ho	4	4	4	4	0	0
8	Dre	4	4	4	4	0	0
9	Zei	4	4	3	3	0	0
10	Möl	3	2	4	4	1	0
11	Klu	1	—	1	1	1	0
12	Fü	4	4	4	4	0	0
13	Fö	4	4	2	2	0	0
14	Zwi	4	4	4	4	0	0
15	Zei	2	—	3	3	2	0
16	Bu	4	4	1	1	3	0
17	Fö	4	1	1	1	3	0
18	Alt	4	4	—	—	0	—
19	Flie	4	4	2	2	0	0
20	Ga	4	4	4	4	0	0

*) Die Zahlen drücken die Anzahl Kreuze aus, also 4 = + + + +, — bedeutet negativ.

Die 20 Seren unserer zweiten Untersuchungsreihe entstammen sämtlich Fällen von Dementia paralytica. Die Kranken erhielten abends 8 gr Paraldehyd, nachdem ihnen vorher eine Blutentnahme gemacht worden war, die am anderen Morgen wiederholt wurde. Die meisten hatten lange vorher kein Paraldehyd bekommen; in 7 Fällen, wo dies nicht der Fall war, legten wir vor Beginn des Versuches eine 4tägige Karenzzeit, während der kein Paraldehyd verabfolgt wurde. Die Versuche wurden teilweise mehrfach wiederholt.

Hier können wir nun die Ergebnisse der früheren Autoren (Fuchs, Maaß) bestätigen. Zwar reagierten die ausgesprochenen Fälle mit 4 Kreuzen nicht auf die Paraldehyddarreichung. Auch Fuchs konnte bei Paralyse, die in voller Blüte standen, keine Beeinflussung der Serumreaktion durch Paraldehydgaben erreichen. Wir haben einige unserer „4 Kreuz-Fälle“ in abgestuften Serummengen untersucht. Auch hier war kein Unterschied nachweisbar, die komplette Hemmung blieb bis zur stärksten Verdünnung (0,05 Serum) auch bei den Seren bestehen, die nach den Paraldehydgaben entnommen worden waren. Nur ein 4 Kreuz-Fall reagierte, merkwürdigerweise sogar sehr stark: Fö. II (No. 17). Er zeigte am Abend vor der Paraldehydgabe eine komplette Hemmung, am anderen Tag aber nur noch ganz schwache Hemmung der Hämolysen. Derselbe Patient hatte einige Zeit zuvor (s. No. 13) keine Abschwächung gezeigt, war aber mittlerweile behandelt worden.

Bei unseren serologisch mittelschweren Fällen aber, also Seren mit mäßiger Komplementbindungsfähigkeit, konnten wir durchweg eine Abschwächung der WaR. durch Paraldehydgaben feststellen. Die Differenz betrug 1—2 Kreuze, so daß 4 Fälle (5, 6, 11, 15), die vorher schwach positiv waren, nach der Paraldehyddarreichung völlige Hämolysen zeigten, also glatt negativ wurden. Wir können zusammenfassend sagen, daß von 20 Paralysefällen 12 unbeeinflusst blieben, 7 eine mäßige Beeinflussung durch Paraldehydgabe zeigten, (1—2kreuzige Differenz), einer eine starke Beeinflussung (3kreuzige Differenz).

Ganz anders ist das Resultat der M. T. R., die niemals eine Abschwächung nach Darreichung von Paraldehyd erkennen ließ. Eine sichere Erklärung dafür vermögen wir zunächst nicht zu geben.

Man könnte einwenden, daß die Erscheinung der Abschwächung der WaR. von der Anwesenheit des Paraldehyds im Serum abhängig sei. Denn dieses Narkoticum wird ja in so reichlicher Menge gegeben, daß man es an der Blutprobe nach der Entnahme gelegentlich noch durch den Geruch nachweisen kann. Wir haben aber durch Versuche in vitro nachgewiesen, daß dies nicht der Fall ist. Wir haben positiven Seren kurz vor Anstellung der WaR. Paraldehyd zugesetzt (1 Tropfen auf $\frac{1}{2}$ ccm Serum). Das Ergebnis der WaR. wurde dadurch nicht beeinflusst; ebensowenig geschah dies, wenn wir das Narkoticum dem Serum am Vorabend des Wassermanntages zufügten und die Probe über Nacht bei 37° aufbewahrten. Ein gleiches Ergebnis hatte übrigens auch Hough bei seinen Alkoholversuchen. Er konnte feststellen, daß man absoluten Alkohol im Verhältnis von 24 : 1 Teil Serum gebrauchen muß, um eine vollständige Hämolysen der Blutkörperchen in einer Stunde hervorzurufen, und um dieselbe Erscheinung binnen 3 Std. zu bewerkstelligen, muß man 16mal mehr absoluten Alkohol als Serum in Anwendung bringen.

Besprechung der Ergebnisse.

Unsere Versuche ergaben also keine Beeinflussung negativer Seren durch eine Aethernarkose, dagegen Abschwächung positiver Seren durch Paraldehydgaben. Leider war es uns aus äußeren Gründen nicht möglich, positive Seren auf etwaige Abschwächung durch die Aethernarkose zu untersuchen. Wir sind also mit Sonntag, dessen Ergebnisse wir bestätigen können, der Meinung, daß

die gegenteiligen Behauptungen wahrscheinlich auf Uebersehen gleichzeitiger Lues oder auf mangelhafte Methodik zurückzuführen sind. Wir sind der Ansicht daß dadurch eines der Argumente für die Hypothese fällt, daß die Luesreagine lediglich ins Blut übergetretene Organsubstanzen lipoider Natur sind.

Andererseits sehen wir in der Bestätigung der Beobachtung, daß positive Reaktionen durch Paraldehydgaben abgeschwächt werden können, ein neues Kriterium für die Richtigkeit der Theorie, daß die Luesreagine echte Antikörper darstellen, wobei wir offen lassen wollen, ob es sich um Autoantikörper handelt oder um Antikörper gegen die Lipoider der Spirochäten. Es ist nämlich hinlänglich bekannt, daß Schädlichkeiten mannigfacher Art, die den Organismus treffen, die Entstehung von Antikörpern beeinträchtigen können. Abbot und Bergey (13) haben z. B. festgestellt, daß gegen Rinderblut immunisierte Meerschweinchen bei fortgesetzter Behandlung mit Alkohol die spezifischen Ambozeptoren sehr rasch aus ihrem Blute verloren. Friedberger (14) fand bei alkoholisierten Tieren die Agglutininproduktion auf etwa $\frac{1}{17}$ gegenüber den Kontrolltieren herabgesetzt. So möchten wir auch die Abschwächung der WaR. nach Paraldehydgaben auf abnorm geringe Produktion von Antikörpern bei gleichbleibender Ausscheidung zurückführen. Wir sehen ein Analogon dazu in der Beobachtung von Boas (15), der bei zwei Paralytikern eine Abschwächung der WaR. in der Agone fand; hier lag wohl die Tätigkeit der antikörperbildenden Zellen bereits völlig darnieder.

Wegen der Bedeutung der hier erörterten Ergebnisse hinsichtlich der Therapie der Lues, sei, um Wiederholungen zu vermeiden, auf die wörtlich gebrachten Ausführungen von Sachs verwiesen.

Was die sonstigen praktischen Folgerungen aus unseren Untersuchungen betrifft, so glauben wir ohne Bedenken positive Ergebnisse von Narkoseren zu verwerten zu können. Es wird dies sicher in vielen Fällen von den Chirurgen als Erleichterung empfunden werden, denn gerade während oder am Schluß einer Narkose können Blutproben leicht, und ohne daß der Patient es merkt, entnommen werden.

Zum Schluß wäre zu prüfen, ob der unzweifelhaften Tatsache, daß eine positive WaR. durch Paraldehyd- oder Alkoholgaben abgeschwächt oder zum Verschwinden gebracht werden kann, eine praktische Bedeutung zukommt, und zwar einerseits in klinischer, andererseits in forensischer oder versicherungsrechtlicher Hinsicht. Der Arzt, insbesondere der Psychiater, darf unseres Erachtens diese Möglichkeit nicht außer acht lassen, und zwar sowohl bei Beurteilung seiner therapeutischen Erfolge, als auch bei Begutachtungsfällen. Von Wichtigkeit ist hier unsere Beobachtung, daß die M.T.R. durch Darreichung von Narkoticis offenbar nicht abgeschwächt wird. Ob dies für sämtliche Trübungsflockungsreaktionen der Syphilis gilt, kann nicht ohne weiteres gesagt werden.

Literaturverzeichnis.

- 1) Craig u. Nichols, zit. nach Hough. — 2) Hough, Ztschr. f. die ges. Neurologie und Psychiatrie Orig. Bd. 10. 1912. — 3) Fuchs, Psychiatrisch-Neurolog. Wochenschr. 15. Jahrg. Nr. 41. 1914. — 4) Maas, Ztschr. für die gesamte Neurologie und Psychiatrie, Bd. 24, S. 527. — 5) Wolfsohn, Deutsche med. Wochenschr. 1910 Bd. 6. S. 505. — 6) Reicher, Dtsch. med. Wochenschr. 1910 S. 617. — 7) Boas u. Petersen, Niederländisch, ref. Ztschr. f. Immunitätsf. Ref. Bd. 8. 1911, S. 514. — 8) Sonntag, Dtsch. med. Wochenschr. 1916. S. 1599. — 9) Sachs, Ref. auf dem Dermatologenkongreß in Hamburg, s. Bruck, Die Serodiagnose der Syphilis, 2. Aufl. Berlin, Springer 1924. S. 18. — 10) Sachs, A. Klopstock u. Weil, Dtsch. med. Wochenschr. 1925. Nr. 15.; Dtsch. med. Wochenschr. 1925, S. 1017. Dtsch. med. Wochenschr. 1926, S. 650; Klin. Wochenschr. 4. Jahrgang Nr. 34. Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 46. S. 81.; Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 47, S. 316. — 11.) F. Klopstock, Dtsch. med. Wochenschr. 1926. S. 226. — 12.) Baumgärtel, Ergebnisse d. Hyg. Bd. 5. 1922. S. 480. Berlin, Springer. — 13) Abbot u. Bergey, zit. nach P. Th. Müller, Vorlesungen über Infektion und Immunität, 5. Auflage. Jena, Fischer 1917, S. 376. — 14) Friedberger, Berl. klin. Wochenschr. 1904. — 15) Boas, zit. nach Bruck, Die Serodiagnose d. Syphilis. 2. Aufl. Berlin, Springer 1924. S. 67.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen zur Amino-Stickstoffbestimmung mit Ninhydrin bei der Abderhalden-Reaktion und bei der Erforschung des Bakterienstoffwechsels.

[Aus dem Institut für experimentelle Therapie Frankfurt a. M.

(Direktor: Geh. Med.-Rat Professor Dr. Kolle),

Abteilung für Krebsforschung (Leiter: Professor Dr. Caspari).]

Von Prof. Dr. **E. Küster** und Dr. phil. **K. Koulen**.

In unseren „experimentellen Untersuchungen zum interferometrischen und chemischen Nachweise von Abderhaldenschen Serumfermenten“ benützten wir zur Feststellung der Aminostickstoffverschiebungen 2 quantitativ ausgearbeitete Modifikationen der Ninhydrinreaktion (Ruhemann-Abderhalden):

Herzfeld (1) erreichte vollständigen Ablauf der Ninhydrinreaktion durch Eindampfen der zu untersuchenden neutralisierten Lösung mit Ninhydrin auf dem Wasserbad; die dabei gebildete Farbsubstanz wird in 90proz. Alkohol aufgenommen und kolorimetrisch gegen eine Vergleichslösung ausgewertet.

Abderhalden nimmt zwar an, daß die Voraussetzung von Herzfeld, nach der einfache quantitative Beziehungen zwischen Farbintensität und Menge der mit Ninhydrin reagierenden Stoffe bestehen sollen, nicht zutrifft, Riffart hat dagegen den Nachweis geführt, daß bei Innehaltung exakt bestimmter optimaler Bedingungen die Ninhydrinreaktion quantitativ zuverlässige Werte gibt und ist ebenso wie Herzfeld bisher unwiderlegt geblieben.

Riffart (2) fand die Stärke der Färbung und den Farbton der Ninhydrinreaktion in hohem Maße abhängig von dem p_H der Lösung; sie tritt nach seinen Untersuchungen bei geringer Aminosäurekonzentration überhaupt nur zwischen p_H 6 und p_H 7,6 ein. Er meint hierbei nicht das p_H seines Reaktionsgemisches (zu untersuchende neutralisierte Lösung plus Pufferlösung plus Ninhydrin), sondern das des Gemisches vor Zugabe des Ninhydrins. Durch Zugabe des Ninhydrins wird, wie elektrometrische Kontrollmessungen dartun, die Wasserstoffionenkonzentration ganz wesentlich erhöht, d. h. p_H erniedrigt; z. B. fanden wir das p_H einer Mischung aus 2 ccm Wasser (an Stelle der auf das p_H der Pufferlösung neutralisierten Aminostickstofflösung) plus 2 ccm Riffartscher optimaler Pufferlösung (p_H 6,98) und 1 ccm einer 1proz. wäßrigen Ninhydrinlösung zu p_H 4,6; die Kontrollbestimmung des p_H der zugesetzten Pufferlösung ergab p_H 7,00.

Ein wesentliches Erfordernis ist nach Riffart Erhitzen bis zur größten Farbstärke, die in heißen Lösungen erreichbar ist, und ein genügend großer Ueberschuß an Ninhydrin (auf ein Gewichtsteil Aminostickstoff etwa 250 Gewichtsteile Ninhydrin). Hierdurch wird wahrscheinlich das Reaktionsgleichgewicht praktisch vollständig zugunsten der Farbbildung verschoben.

Unter diesen Bedingungen konnte Riffart eine der Aminostickstoffkonzentration proportionale Farbbildung beobachten. Die Anwendung der Riffart-Methode auf die Original-Abderhalden-Reaktion mußte gegenüber der qualitativen Ninhydrinreaktion nach Abderhalden einen wesentlichen Fortschritt bedeuten, da sie die Umständlichkeit und Unsicherheit der qualitativen Reaktion vermeidet und eine Zunahme des Amino-N im Dialysat

objektiv und quantitativ bestimmt. Für die wissenschaftliche Erforschung der Grundlagen der Abderhalden-Reaktion wäre die allgemeine Anwendung der quantitativen Bestimmung von der größten Bedeutung; sie würde z. B. die Entscheidung der Frage gestatten, ob vielleicht positiver und negativer Reaktionsausfall nach Abderhalden in Wirklichkeit nur verschiedene Grade desselben Vorgangs sind.

Sowohl die Methode nach Herzfeld als auch die nach Riffart wurde bereits praktisch zum Nachweis der Eiweißabbaustufen bei der Original-Abderhalden-Reaktion im Dialysat benützt.

Rothlin (3) führte die quantitative Ninhydrinreaktion nach Herzfeld im Dialysat bei verschiedenen Krankheitszuständen durch. Er fand tatsächlich verschieden hohen Abbau, aber keine spezifischen Beziehungen desselben zum klinischen Bild.

Im Hygienischen Institut der Universität Frankfurt a. M. unternahmen dann Gersbach (4) und später Dietz (5) ausgedehnte Untersuchungen über den Riffartschen quantitativen Nachweis der Abbaustufen im Dialysat. Sie wählten dabei einen kleineren, aber durchaus hinreichenden Ninhydrinzusatz; Gersbach standen häufig nur kleine Mengen von Pat.-Serum zur Verfügung; um auch bei diesen methodische Untersuchungen ausführen zu können, setzte er 0,3 Serum mit 1,2 Kochsalzlösung verdünnt gegen 1,0 g feuchtes Substrat mit einem Fünftel der sonst üblichen Dialysierflüssigkeit, also 4,0 Aqu. dest., in entsprechend gewählten Gefäßen in Reaktion.

In einer 1. Veröffentlichung glaubte Gersbach die Spezifität der Abderhalden-Reaktion bei Gravidität voll bestätigen und seine Methode für die Praxis diagnostisch empfehlen zu können: von 41 Gravidseren reagierten 40 mit einem Mehrausschlag von 2 mg p. Lit. dialysablem Aminostickstoff gegenüber dem Kontrollserum, ein Ausschlag, den Gersbach als „positiv“ auffaßt, nur eine Gravida vom 9. Monat reagierte negativ. Bei keinem der 27 Seren von Nichtgraviden wurde bei dieser Begrenzung Abbau nachgewiesen.

Eine zweite später veröffentlichte Versuchsserie ergab allerdings weniger günstige Resultate: von 16 Schwangerenserren reagierten 13 positiv, 3 negativ, 2 Aborte im 2. Monat, eine Gravidität vom 9. Monat. Unter 11 Seren von Nichtgraviden lieferten aber diesmal 7 einen Abbau von über 2 mg Aminostickstoffzuwachs i. Lit., unter diesen 7 Seren stammten 4 vom Mann. Dieser Ausfall bestimmte Gersbach zu einer Einschränkung seiner früheren günstigen Stellungnahme und zur Forderung eingehender methodischer Voruntersuchungen. Nimmt man beide Versuchsserien zusammen und berücksichtigt, daß die 4 Seren vom Mann für die praktische Graviditätsdiagnose nach Abderhalden ausscheiden, so verbleibt u. E. immer noch mit ungefähr 10 Proz. Fehlresultaten eine recht hohe Zuverlässigkeit der Reaktion; wir sehen in Gersbachs Befunden zum mindesten eine Stütze für die Richtigkeit der Abderhaldenschen Anschauung über die Grundlagen seiner Reaktion, an der übrigens auch Gersbach auf Grund von tierexperimentellen Untersuchungen durchaus festhält.

Dietz fand nach der gleichen Methode an Wiederkäuern sehr wenig befriedigende Ergebnisse: Solange der Einfluß des Verdauungszustandes auf den Ausfall der Abderhalden-Reaktion, der nach den Dietzschen Untersuchungen offenbar von Bedeutung ist, nicht näher erforscht und festgelegt ist, dürfte eine kritische Verwertung der Dietzschen Befunde für die Abderhalden-Reaktion nicht angängig sein.

Die Bedeutung der Abderhalden-Reaktion liegt unseres Erachtens vor allem in ihrer Eignung zur Erforschung biologischer Vorgänge; sie muß daher durch quantitative Gestaltung erst ihren vollen Wert erhalten, ob sie dazu noch eine klinische Brauchbarkeit aufweist, wird wohl erst entschieden

werden, wenn die ihr zugrunde liegenden biologischen und physikalisch-chemischen Vorgänge besser erkannt sind.

Der Nachweis von Amino-N-Zuwachs bei der Abderhalden-Reaktion wird erst nach Entfernung des Serumeiweißes durch Fällung oder Dialyse deutlich, da er im Verhältnis zur Zahl der NH_2 -Gruppen der Serumeiweißkörper nur klein sein kann. Die Dialyse ist zweifellos eine einfache und schonende Form der Eiweißentfernung, gleichmäßig-quantitative Ergebnisse setzen aber eine sehr strenge Prüfung der Hülzen auf gleichmäßige Durchlässigkeit voraus. Nimmt man hinzu, daß von verschiedenen Untersuchern diese Durchlässigkeit auch noch veränderlich gefunden wurde, so scheint es wünschenswert, daß man den Amino-N-Zuwachs mit der Ninhydrinreaktion nach Dialyse und daneben nach Fällung ausführt.

Von Fällungsmitteln sind nur diejenigen brauchbar, die keinen störenden Einfluß auf die spätere Ninhydrin-Reaktion ausüben. Wir wählten Alkohol. Die Fällung des Serumeiweißes mit 10fachem Volumen 99proz. Alkohol bewirkt zwar vollständige Enteiweißung, das Filtrat besitzt aber alkalische Reaktion, die für die Ninhydrin-Reaktion nicht optimal ist. Das Optimum der Reaktion fanden wir bei Fällung mit alkoholischer 1proz. Benzoesäurelösung. Diese entzieht dem Serum anscheinend eine konstante Menge Na, so daß damit gleichzeitig eine Pufferung erreicht wird; jedenfalls ergab Zusatz von Neutralrot zum Filtrat bei den verschiedenen Seren gleichen Farbton.

Für die hier in Betracht kommenden Mengen von Amino-N erwies sich uns ein Zusatz von 0,5 ccm 1proz. Lösung von Ninhydrin in 99proz. Alkohol auf 4 ccm des Serumfiltrats als genügend großer Ueberschuß. Dieses Verhältnis ist wesentlich; ein Abgehen davon würde eine besondere Bestimmung der optimalen Bedingungen für das neue Verhältnis erforderlich machen.

Optimale Reaktion wurde auch erhalten durch Fällung mit reinem Alkohol und nachträgliche Zugabe von 1 ccm alkoholischer Azetatpufferlösung zu 4 ccm Filtrat (8 ccm m/10 Kaliumazetat und 32 ccm m/10 Essigsäure in 1 Vol. Wasser + 10 Vol. Alkohol).

Wir haben die Amino-N-Bestimmung in Serum nach Alkohol-Enteiweißung in der eben beschriebenen Form durch Glykokollzusatz zu Serum auf Empfindlichkeit und Gleichmäßigkeit geprüft.

Von einer rund 1proz. Stickstoff enthaltenden Glykokollösung werden folgende Verdünnungen hergestellt:

A) 0,50 ccm Glykokollösung	+	0,50 Wasser.	Gehalt ca. 500 mg^0/o N
B) 0,45 „	„	+ 0,55 „	„ „ 450 „
C) 0,20 „	„	+ 0,80 „	„ „ 200 „
D) 0,10 „	„	+ 0,90 „	„ „ 100 „

Von diesen Verdünnungen werden je 0,03 ccm mit je 3 ccm eines Serums vermischt und von diesen Mischungen und ebenso von dem Ausgangsserum je 3 Proben von 0,5 ccm mit 5 ccm 99proz. Alkohol durch 5 Min. langes Erhitzen auf 72^0 gefällt und filtriert. Die einzelnen Proben erhalten die Nr:

1, 2, 3	bei Mischung aus A) plus Serum
4, 5, 6	„ „ „ B) „ „
7, 8, 9	„ „ „ C) „ „
10, 11, 12	„ „ „ D) „ „
13, 14, 15	je 0,5 ccm Ausgangsserum.

Außerdem werden von den Glykokoll-Lösungen A) und D) je 0,03 ccm mit je 3 ccm Wasser verdünnt, von jeder Verdünnung 2mal 0,5 ccm mit 5 ccm Alkohol gemischt — Probe Nr. 16 und 17 bzw. Nr. 18 und 19 — und mit den Serumfällungen Nr. 1—15 zusammen erhitzt. Schließlich werden von einer Asparaginsäure-Standard-Lösung, die 2,5 mg^0/o Stickstoff enthält, 2 Proben von 0,5 ccm ebenfalls mit 5 ccm Alkohol gemischt und erhitzt: Nr. 20 und 21.

Von sämtlichen Serumfiltraten bzw. Aminosäurelösungen wurden je 4 cem mit 1 cem der erwähnten Pufferlösung und 0,5 cem 1proz. alkoholischer Ninydrin-Lösung 30 Min. im Wasserbad auf 73° erhitzt, nach 20 Min. langem Abkühlen mit einer Mischung aus 1 Vol. Wasser und 10 Vol. absol. Alkohol auf 25 cem aufgefüllt und im Kolorimeter gemessen.

Tabelle I.

A) Messung:

(Die Zahlen sind die gemessenen Schichthöhen in mm; die Vergleichslösung steht immer auf 20 mm.)

B) Berechnung:

(Aus Nr. 21 = 2,5 mg% ergibt sich Nr. 17 = 5,28 mg% und Nr. 15 = 4,28 mg% als Grundlage der Sollwerte.)

Probe Nr.	Zusammensetzung	Als Vergleichslösung benutzt				Aus den Messungen gegen				Sollwerte
		Nr. 17 mm	Nr. 15 mm	Nr. 6 mm	Nr. 21 mm	Nr. 17 mg%	Nr. 15 mg%	Nr. 6 mg%	Nr. 21 mg%	
1	Serum + ca.	11,3	9,3	17,9		9,35	9,45	9,57		9,70
2	5 mg% Glyko-	11,3	9,3	17,9		9,35	9,45	9,57		
3	koll-N	11,3	9,3	18,0		9,35	9,45	9,52		
4	Serum + ca. 4,5	12,4	10,4			8,50	8,50			9,08
5	mg% Glyko-	12,2	10,2			8,64	8,70			
6	koll-N	12,3	10,4			8,56	8,50			
7	Serum + ca.	16,6	14,4	27,0		6,35	6,14	6,35		6,53
8	2 mg% Glyko-	17,1	14,7	27,7		6,176	6,02	6,19		
9	koll-N	17,1	14,7	27,8		6,17	6,02	6,17		
10	Serum + ca.	19,8	17,2			5,33	5,12			5,48
11	1 mg% Glyko-	20,3	17,4			5,18	5,06			
12	koll-N	20,0	16,9			5,26	5,18			
13	Ausgangsserum	25,4	20,8			4,23	4,24			
14		24,6	20,2			4,37	4,42			
15		24,4				4,42				
16	Glykokolllösung	20,0			9,5	5,23			5,28	
17	von ca. 5 mg% N				9,5				5,28	
18	Glykokolllösung	103,0			48,2	1,03			1,04	
19	von ca. 1 mg% N	102,0			48,2	1,03			1,04	
20	(und Nr. 21) Asparaginsäurelösung 2,50mg%N	43,2			20,3	2,44			2,45	

Die Gleichmäßigkeit der Proben ließ im allgemeinen nichts zu wünschen übrig. Probe Nr. 7 zeigte gegenüber den beiden „identischen“ Proben Nr. 8 und 9 einen Mehrgehalt von + 0,12 bis + 0,18 mg% gleich ca. 2—3 Proz. des Gesamtwertes, Probe Nr. 13 einen Mindergehalt von ca. 0,18 mg% gleich ca. 4 Proz. des Gesamtwertes. Wie die gleichsinnig abweichenden Meßzahlen bei verschiedenen Vergleichslösungen zeigen, handelt es sich bei Nr. 7 und 13 nicht um Meßfehler, sondern um Verschiedenheiten im Gehalt der Lösung.

Die wiedergefundenen Werte für die Zusätze erreichten bei den höheren Zusätzen mit 90 Proz. fast den theoretischen Wert, während sie bei den niedrigen Zusätzen nur 70 Proz. der zugegebenen N-Menge anzeigten.

Für die im Abderhalden-Versuch nach den Literaturangaben zu erwartenden Werte von ca. 5 mg% Zuwachs (cf. 6) zeigt sich also die Methode der Fällung mit Alkohol der Enteiweißung mit Trichloressigsäure etwa gleichwertig (vgl. auch Kupelwieser (7)).

Kupelwieser findet bei einem Glykokollzusatz von 1,85 mg% Aminostickstoff zu Serum mit der van Slykeschen Methode 89 Proz. des Zusatzes

wieder. Interessant ist in diesem Zusammenhang, daß mit der Sörensen-Methode, also ohne Enteiweißung, bei einem Zusatz von 3,1 mg^o/_o Amino-stickstoff (Glykokoll) auch nur 90 Proz. des Zusatzes von ihm nachgewiesen werden können; vielleicht ist also der „Verlust“ auch bei unseren Versuchen weniger durch Einschluß oder Adsorption bei der Eiweißfällung bedingt; es scheint vielmehr ein Teil des Glykokolls schon bei der Mischung eine Bindung einzugehen, die ihn dem Ninhydrinnachweis entzieht.

Bei den folgenden vergleichenden Untersuchungen lag die klinische Bewertung von vornherein nicht in unserer Absicht. Wir wollten feststellen: findet bei Einwirkung von Serum auf Substrat ein Eiweißabbau im Sinne der Vermehrung des Aminostickstoffes statt, und ist dieser Abbau eine normale Eigenschaft aller Seren? Bestehen wesentliche Unterschiede zwischen den Ergebnissen des Dialysierverfahrens und denen der Bestimmung nach Eiweißfällung mit Alkohol? Lassen sich einfache Beziehungen zwischen chemischem Abbau und Interferometerauschlag nachweisen?

Zur Bestimmung des alkohollöslichen Aminostickstoffs wählten wir die Fällung des Serums mit der alkoholischen Benzoesäure. Gleichzeitig wurden die Seren auf Interferometerabbau (unter Ausschluß der Quellung cf.: 8) geprüft. Bei allen Versuchen werden auf 1 ccm Serum 30 mg Substrat (trocken!) verwendet.

Tabelle II.

Name des Pat. und Journ.-Nr.	Diagnose	mg% Aminostickstoff:				Trommelteile = Interferometerausschlag durch				
		im Serum allein (Grundwert)	Zunahme durch Zusatz von				Plazenta „P.“	Ovar. II	Testikel I	Schilddrüse I
			Plazenta „P.“	Ovar. II	Testikel I	Schilddrüse I				
Au. 150	Struma	4,4	2,8	4,0		0,8	19	24		13
St. 117	Grav. 6 Mon.	2,4	1,4		0,1					
Lei. 1349	Nephrosklerose	5,3	1,2		—0,2					
Ob. 1228	Hypertonie	3,6	2,0		0,8					
Ro. 1. 5.	Struma, jugendl.	2,1	1,7	0,7	0,1	0,2	16	29	5	15
27										
St. 117	Grav. 6 Mon.	4,0	2,8	15,4 ¹⁾		1,2	19	22		12
3. 5. 27	Grav. 2—3 M.??	7,5	5,2	6,7		5,2	19	13		18
Wei.?										
Hbg.										
Wa. 1405	Struma, diffusa	6,5	4,6	4,6		0	17	14		35
Zi. 163	Menopause, beginnende	5,0	1,0	2,5		—0,2	32	28		25
Stü. 1411	Hypofunkt. Ovarielle	9,5	0	5,7		0	31	45		14

In einer 2. Gruppe von Seren wurde dazu noch der Plazentaabbau mit dem Abderhalden-Dialysierverfahren quantitativ nach Riffart bestimmt. — Die gleichmäßige Durchlässigkeit und Eiweißdichtigkeit der Hüllen war durch vorhergehende quantitative Bestimmung der dialysablen Amino-N an gleichen Serumproben gewährleistet. Bei den Dialysierversuchen wurde auf 1,5 ccm Serum 50 mg trockenes Plazentasubstrat zugesetzt.

Bei der Betrachtung unserer Versuchsergebnisse in Tabelle II und III scheidet eine Bewertung der diagnostischen Brauchbarkeit der Methode von selbst aus, weil die Zahl der Fälle und die der in Versuch gesetzten Substrate zu klein sind, und die Brauchbarkeit der Organpulver nicht mit den üblichen

1) Unsteril.

Tabelle III.

Patient	im Serum allein	Aminostickstoff in mg % Zunahme nach						Interferometerausschlag in T. T. nach Zusatz von Or- gansubstanz, trocken			
		Enteiweißung nach Zusatz von				Dialyse					
		Placenta pro 1 ccm		Nebenniere pro 1 ccm		im Se- rum allein	Zusatz von Plaz.	Placenta pro 1 ccm		Nebenniere pro 1 ccm	
		10 mg	30 mg	10 mg	30 mg			10 mg	30 mg	10 mg	30 mg
Mü. 223 gravid.	7,7	0,4	3,1	—0,1	0,1	9,7	9,3	7	22	3	8
Neu. 224 gravid.	7,4	1,4	4,4	—0,1	0,1	10,8	6,0	6	21	2	7
Arn. 252 Ulcus	2,6		4,1			2,5	6,1		36		
Mor. 1336 Go., Salp.	2,3		5,6			1,6	6,3		42		
Müh. 234 gravid.	2,6		5,1			3,5	4,7		41		
Steil. 117 gravid.	0,5		6,4			0,7	8,5		31		

physikalischen und chemischen Untersuchungen sichergestellt werden kann. Unsere Pulver genügen selbstverständlich den Anforderungen bzgl. Sterilität, Freisein von Blutbestandteilen, Nichtabgabe von ninhydrinpositiven Substanzen beim Kochen oder Bebrüten in Kochsalzlösung und sogar in alkalischer Pufferlösung. Die von uns geübte Verwendung von Trockensubstraten hat nach Abderhaldens Versuchen keinen nachteiligen Einfluß. Unsere Substrate sind in alkalischer Pufferlösung und demnach wahrscheinlich auch in Serum physikalisch, d. h. ohne Spaltung des Moleküls, löslich. Da diese Löslichkeit u. E. eine natürliche, durch keine der verschiedenen üblichen Darstellungsweisen zu vermeidende Eigenschaft aller Organsubstrate ist, kann sie nicht die Ursache unspezifischer Ergebnisse sein; dazu kommt, daß die in unseren Versuchen beobachtete Löslichkeit in Pufferlösungen nicht zu positiver Ninhydrinreaktion führte, also nicht an sich mit Eiweißabbau verbunden ist; eine Mitwirkung nur gelösten, nicht abgebauten Eiweißes an unseren Amino-N-Werten ist aber wegen seiner Kolloidnatur ausgeschlossen (Unlöslichkeit in Alkohol und Nichtdialysierbarkeit). Abderhalden selbst sieht in seinen Substrat-Vorprüfungen keine hinreichende Garantie für ihre Brauchbarkeit. Er verlangt deshalb Prüfung an sicher positiven und sicher negativen Fällen. Solange aber die Brauchbarkeit eines Organsubstrates nur durch Feststellung eben dieser Brauchbarkeit zu erweisen ist, läßt sich die Frage der Spezifität im wissenschaftlichen Sinne überhaupt nicht entscheiden.

In der Mehrzahl der Versuche ist der chemische Abbau offensichtlich; in einzelnen Fällen liegt er der Fehlergrenze so nahe, daß die Annahme eines regelmäßigen in allen Seren vorkommenden proteolytischen Fermentes hier keine Stütze findet. Die Amino-N-Zunahme und die Amino-N-Grundwerte der Seren nach Dialyse einerseits und Eiweißfällung andererseits lassen eine im Verhältnis zur Verschiedenheit der Nachweismethoden deutliche Annäherung erkennen. Im allgemeinen scheint das Dialysierverfahren etwas mehr Aminostickstoff zum Nachweis zu bringen.

Aminostickstoffzunahme und Interferometerwert lassen keine Beziehungen zueinander erkennen [cf. Ferment = Fo. Bd. 6. 230. N-Bestimmungen von Abderhalden und (8) Tab. V und VI Rest-N].

Ein endgültiges Urteil über den fermentativen Charakter der nachgewiesenen Eiweißspaltung und über die Muttersubstanz der Spaltprodukte ist bisher

nicht möglich. — Eine Gesamtstickstoffzunahme und makroskopisch oder mikroskopisch sichtbare Verminderung des Substrates läßt sich auch aus Substrat—Lösung ohne Abbau erklären; Amino-N-Zuwachs könnte der Ausdruck physikalisch bedingter hydrolytischer Spaltung sein.

Ein überzeugender Beweis für Substratspaltung ist bisher nicht erbracht; ebensowenig scheinen uns die für Serumabbau angeführten Gründe stichhaltig.

In der folgenden Zeit haben wir an etwa 40 Patientenseren die Abderhalden-Reaktion mit einer Reihe verschiedener Organsubstrate durchgeführt und dabei den Amino-N im Dialysat quantitativ nach Riffart bestimmt. Es bestätigte sich die schon früher gemachte Erfahrung, daß mehrere aus demselben Organ-Ausgangsmaterial nach gleicher Methode gewonnene Substrate sich den gleichen Seren gegenüber wesentlich verschieden verhielten. Z. B. gab ein Ovarpulver — das natürlich den Abderhaldenschen Anforderungen genügte — mit jedem der untersuchten männlichen und weiblichen Seren einen deutlichen Abbau; ein anderes Ovarsupstrat zeigt zwar öfters deutlichen, mit einigen Seren aber außerordentlich geringen oder negativen Ausschlag. Eine analoge Erscheinung boten unsere verschiedenen Plazentapräparate; eines von diesen hatte dabei dieselbe Abbauhöhe wie ein Plazentapräparat, welches wir der besonderen Güte von Abderhalden verdanken, während andere Plazentasubstrate stets ausgesprochen höhere oder niederere Werte ergaben. Endlich hatten wir auch Substrate in der Hand, die, *lege artis* hergestellt und gekocht, bis keine ninhydrinpositiven Substanzen mehr in Lösung gingen, mit keinem der untersuchten Seren einen Abbau aufwiesen.

Die gleiche Beobachtung haben ja vor uns schon andere, vor allem Abderhalden selbst gemacht; er leitet daraus seine Forderung nach klinischer Vorprüfung seiner Substrate auf klinische Brauchbarkeit ab und betrachtet die Herstellung spezifischerer Organsubstrate als das wesentlichste Ziel. Aus neueren Untersuchungen schließt Abderhalden (9), daß nur ein kleiner Anteil der üblichen Substrate spezifisch ist; seine Versuche, diese streng spezifische Substanz zu isolieren oder wenigstens anzureichern, haben bereits zu bemerkenswerten Ergebnissen geführt.

In der Verschiedenheit des zur Substratherstellung verwendeten Ausgangsmaterials können wir die Ursachen für die Gewinnung diagnostisch verschieden brauchbarer Organsubstrate nicht erblicken, eine solche Annahme spräche schon gegen die Spezifität des Organeiweißes: wir teilten ein Organ — frische Plazenta — in verschiedene Portionen, behandelten diese vorschriftsgemäß nach gleicher Methode und erhielten trotzdem verschieden abbaufähige Endprodukte.

Der Gang der Substratherstellung muß daher Stufen aufweisen, deren Einwirkung und optimale Bedingungen nicht erkannt, bzw. nicht genügend definiert sind. Solange auf diesem Gebiet keine wesentlichen Fortschritte erzielt sind, solange, abgesehen von Spezifität, nicht einmal die Herstellung gleichmäßig arbeitender Substrate gelingt, solange kann auch die beste klinische Verarbeitung von Untersuchungsergebnissen kein allgemeingültiges Urteil über die diagnostische Brauchbarkeit der Abderhalden-Reaktion abgeben. Für den geübten Untersucher bietet die Abderhalden-Reaktion in ihrer Originalmethode keine technischen Schwierigkeiten; es ist daher nicht angängig, in der Methodik den Grund für Mißerfolge zu erblicken. —

Die quantitative Bestimmung des Amino-N mit Ninhydrin haben Tillmanns und Otto (10) bereits zur Feststellung von beginnender Fäulnis benützt. Es lag nahe, diese Methode auch auf ihre Brauchbarkeit zur Feststellung von Verschiebungen im Amino-N-Gehalt beim Wachstum von Bakterienreinkulturen auf flüssigen Nährmedien zu verwenden. Wir erhoben folgende Befunde:

1) Von 2 identischen Proben Nährbouillon wurde die eine mit einem *Staphylococcus* aus Eiter, die andere mit einem weißen Luftcoccus beimpft; nach 8tägigem Wachstum bei 37° zentrifugiert, zeigte der Ueberstand Probe I 76,2, Probe II 49,5 mg% Amino-N.

Nährbouillonproben mit einem Amino-N-Gehalt von 47 mg% wurden ebenso mit *Staphylokokken*stämmen verschiedener Herkunft beimpft; nach 8 Tagen zeigte Stamm I 85; II: 44; III: 51; IV: 106 mg% A.-N. Interessant war, daß bei diesem Versuch das gleichzeitige Erhitzen der zentrifugierten Kulturproben im Wasserbad differente Veränderungen am Amino-N-Gehalt zeitigte: Stamm I Abnahme um 7; Stamm II Zunahme um 9; III um 6; IV um 2 mg%.

2) 3 identische Nährbouillonproben wurden mit einem guthämolisierenden Scharlachstreptokokkenstamm (Nr. V Höchst) beimpft, Probe I und II bei 25°, Probe III bei 37°, 48 Std. bebrütet. Es zeigten Probe I: 76; II: 73; III: 95 mg% Aminostickstoff. Wir fällten darauf in diesen Proben das Eiweiß mit der 11fachen Menge 2,5proz. Trichloressigsäure und bestimmten den N des Filtrats nach Kjeldahl und fanden P. I: 244; P. II: 243; III: 257 mg%. Eine Wiederholung ohne N-Bestimmung ergab für 25°, P. I eine Zunahme von 17,4; P. II von 8,5; P. III von 26,7 mg. — Wir geben der Einfachheit halber nur noch die Veränderungen im Gehalt an.

3) Der gleiche Stamm auf Nährbouillon mit und ohne Hämoglobinzusatz ergab ohne Hämoglobin eine Zunahme des Amino-N von 9,7 mg%, mit Hämoglobin von 12,7 mg%. Die N-Bestimmung wie oben ergab im ersten Fall eine Abnahme von 4,2 im 2. Fall eine Zunahme von 5,6 mg%.

4) Eine Reihe von *Staphylokokken* und *Streptokokken*stämmen wurden auf der gleichen Nährbouillon, gegen Verdunstung geschützt, 14 Tage bei 37°, dann 6 Wochen bei Zimmertemperatur gehalten. Es zeigten die Scharlachstreptokokken Nr. I und Nr. III: 68 bzw. 92 mg% Amino-N Zunahme; ein schwachhämolisierender Eiterstreptococcus: + 83, ein nicht hämotoxischer Sputumstreptococcus: + 56 mg%, 3 verschiedene Eiterstaphylokokken eine Zunahme von 42—38—40 mg%.

5) Der Scharlachstreptococcus Nr. V bewirkte in einem weiteren Versuch in 5 Tagen bei 30° unter Paraffinverschluß eine Erhöhung des Amino-N um 13; derselbe Stamm nach einer Mäusepassage eine Erhöhung um 10 mg, während der Stamm Nr. II unter sonst gleichen Bedingungen eine Erhöhung von 6 mg% aufwies.

6) Zum Schluß verfolgten wir das Verhalten des Amino-N verschiedener Kokkenkulturen von Tag zu Tag und fanden für einzelne Stämme deutlich verschiedene Kurven; bei 30° erreichten fast alle Kulturen am 1. bzw. 2. Tag ihr Maximum. Dieser Amino-N-Gehalt bleibt dann bei einigen in seiner Höhe bestehen, während er bei andern nach Erreichung des Maximums erst abfällt, dann konstant bleibt. Verschiedene Stämme der Coli-Gruppe (Paratyphus B, Typhus und Y) wiesen im Gegensatz zu Kokkenkulturen keine oder eine unwesentliche Veränderung des Amino-N auf.

Schlußsätze.

1) Die Methoden von Herzfeld-Klinger und die von Riffart zur kolorimetrischen Bestimmung des Aminostickstoffs mit Ninhydrin wurden kombiniert. Es ergab sich daraus ein Verfahren, das bezüglich Zuverlässigkeit und Empfindlichkeit gut brauchbar und für gleichzeitige Bearbeitung größerer Reihen geeignet ist. — 2) Bestimmt man bei der Einwirkung des gleichen Serums auf die gleichen Substrate einmal den alkohollöslichen

Amino-N, sodann den Amino-N im Dialysat des Abderhalden-Versuchs nach Riffart und endlich den Interferometerausschlag mit Vorquellung nach Pregl, so ergibt sich für beide Amino-N-Bestimmungen eine Uebereinstimmung, soweit die Verschiedenheit der Methoden es erwarten läßt, während zum Interferometerausschlag keine Beziehungen zu finden sind. — 3) In Ermangelung einer genau definierten Methode zur Herstellung sicher brauchbarer Organsubstrate lassen sich die Ergebnisse verschiedener Autoren nicht vergleichen und auch diejenigen der Abderhalden-Reaktion in allen ihren Modifikationen auch klinisch nicht allgemeingültig bewerten. (Die Abderhalden-Reaktion ist nicht unbedingt reproduzierbar.) — 4) Die Riffart-Methode der Amino-N-Bestimmung in wässrigen Lösungen scheint nach einer Anzahl orientierender Versuche zur Erforschung des N-Umsatzes von Bakterienreinkulturen in Nährlösungen brauchbar zu sein.

Literatur.

1) Riffart, Biochem. Ztschr. Bd. 131. 1922. S. 78. — 2) Herzfeld, Ebenda. Bd. 59. 1914. S. 249. — 3) Rothlin, Inaug. Diss. Zürich. 1915. — 4) Gersbach, Münch. med. Wochenschr. 1922. S. 1454. — 5) Dietz, Inaug. Diss. Berlin. 1923. — 6) Die Abderhalden-Reaktion. Berlin (Springer). 1922. S. 263. — 7) Kupelwieser, Biochem. Ztschr. Bd. 178. 1926. S. 324. — 8) Küster u. Koulou, Fern. Forsch. Bd. 9. 1928. S. 265. — 9) Abderhalden, Ebenda. Bd. 9. 1927. S. 119. 132. — 10) Tillmanns u. Otto, Ztschr. f. Unters. d. Nahrungsm. Bd. 47. 1924. S. 29.

Nachdruck verboten.

Die Sichtbarmachung von Bakteriengeißeln am lebenden Objekt im Dunkelfeld.

II. Mitteilung ¹⁾.

[Aus dem Hygien. Institut der Universität Gießen.
(Direktor Prof. Dr. Ph. Kuhn).]

Von Dr. **Franz Neumann.**

Mit 20 Textfiguren und 159 Mikrophotogrammen auf 7 Tafeln.

In einer früheren Mitteilung (25) habe ich gezeigt, daß die Geißeln peritrich begeißelter Bakterien, insbesondere von Proteus- u. Typhusbakterien mit Hilfe von 5proz. Nährgelatine im Dunkelfeld am lebenden Objekt sichtbar gemacht werden können, daß aber die Geißeln monotricher Bakterien und Vibrionen im allgemeinen nicht zu erkennen sind.

Es wurde ferner gezeigt, daß die Geißeln der peritrich begeißelten Bakterien nicht immer gleich gut zu sehen waren, sondern daß man je nach dem Alter der Bakterien verschiedene Stadien der Begeißelung unterscheiden kann.

Im jüngsten (1.) Stadium waren die Geißeln der peritrichen Bakterien ebensowenig, wie die der monotrichen zu sehen. Die Sichtbarkeit begann erst mit dem 2. Stadium und steigerte sich dann im 3. Stadium.

Während die bessere Sichtbarkeit der Geißeln im 3. Stadium als Folge

¹⁾ Vorstehende Arbeit wurde mit Hilfe der Notgemeinschaft der deutschen Wissenschaft durchgeführt.

der Verzopfung mehrerer Geißeln klar erkannt wurde, mußte die Frage, ob die Sichtbarkeit der Geißeln des 2. Stadiums auf einer Zunahme des Dickendurchmessers der Primärgeißeln oder gleichfalls auf Verzopfung beruhe, offen gelassen werden.

Daß die Geißeln in einer 5proz. Gelatinelösung überhaupt sichtbar wurden, während sie in Brühe, physiolog. Kochsalzlösung, Wasser etc. nie gesehen werden konnten, wurde mit dem höheren Brechungsindex der Gelatine in Verbindung gebracht und die Hoffnung ausgesprochen, daß mit einem Medium von noch höherem Brechungsindex auch noch feinere Geißeln sichtbar gemacht werden könnten.

Als nun später in gelöstem Gummiarabicum ein Medium gefunden wurde, das schon in niederen Konzentrationen die Geißeln von Proteus- und Typhusbakterien vorzüglich sichtbar machte, sollte der Versuch gemacht werden, durch Erhöhung der Konzentration dieses Mediums oder ähnlicher anderer den Brechungskoeffizienten zu steigern, um dadurch die noch nicht sichtbaren Geißeln insbesondere die der monotrichen sichtbar zu machen.

Da eine Gummilösung selbst in hohen Konzentrationen nicht erstarrt, was bei einer 10proz. Nährgelatine schon bei Zimmertemperatur eintritt, so war hierin ein nicht unerheblicher Vorteil vor der bisher benutzten Nährgelatine zu erblicken, weil es in der Tat möglich war, durch Erhöhung der Konzentration auch den Brechungskoeffizienten zu steigern, noch dazu, ohne daß die Beweglichkeit der Bakterien durch das zähere Medium wesentlich gehemmt wurde. Es kam also nunmehr darauf an, Bakterien in Gummilösungen von verschiedener Konzentration zu untersuchen, um festzustellen, ob tatsächlich mit der erhöhten Konzentration eine bessere Erkennbarkeit der Geißeln verbunden sei.

Als Testobjekt diente ein Proteusstamm, X 22, aus dem R. G. A. Gewiß wäre ein monotricher Organismus besser gewesen, weil dann von vornherein die Frage, ob man Zöpfe oder Primärgeißeln vor sich habe, ausgeschaltet war. Indessen waren die Resultate, die bisher mit *Vibrio Metschnikoff* und mit *Bac. Pyocyaneus* gemacht worden waren, so wechselnd und unzuverlässig gewesen, daß sie als Vergleichsobjekt nicht in Frage kommen konnten.

Es blieb daher nichts anderes übrig, als sich eines Organismus zu bedienen, bei dem man mit Sicherheit auf Geißeln überhaupt rechnen konnte, und da hatte sich der obengenannte Proteus am zuverlässigsten gezeigt.

Es ergab sich nun ganz einwandfrei, daß das wesentlichste für die Sichtbarmachung der Geißeln nicht die Konzentration des Mediums, sondern der Zustand der Kultur war. Und zwar wurde festgestellt, daß am günstigsten der Augenblick zu betrachten war, wo die Kolonie infolge reichlicher Ernährung große und lange Fäden bildet, die aber erst eine gewisse Zeit auf der Platte geschwärmt haben mußten, bevor sie ihre Geißeln in der besten und stärksten Form zeigen.

Denn stieß man z. B. in der Kultur auf eine Stelle, die gerade erst im Beginn des Schwärmens war oder gar auf eine solche, die noch nicht geschwärmt hatte, wo also die Bakterien eben erst entstanden und die Geißeln noch sehr jung waren, dann waren, wie immer auch die Konzentration des Mediums beschaffen sein mochte, keine Geißeln erkennbar.

Es spielte also dann anscheinend auch der mit der erhöhten Konzentration verbundene höhere Brechungsindex keine Rolle.

Ferner wurde festgestellt, daß die Präparation an sich von großem Einfluß auf die Sichtbarkeit der Geißeln ist, dergestalt, daß mit demselben Medium und demselben Material, das noch dazu von genau derselben Stelle der Kultur entnommen war, das eine Mal gut sichtbare, das andere Mal

schlecht sichtbare Geißeln erzielt wurden. Ja, es konnte vorkommen, daß genau wie bei dem gefärbten Geißel-Präparat im selben Präparat hier gute, dort schlechte Stellen anzutreffen waren.

Von wesentlichem Einfluß hierbei schien die Dichtigkeit der Schicht zwischen Objektträger und Deckgläschen zu sein, die man ja nie ganz gleichmäßig herzustellen in der Lage ist. Von der verschiedenen Dichtigkeit der Schicht aber hing ganz augenscheinlich die Art der Bewegung und die Schnelligkeit der Bakterien ab. Denn nur so kann man es sich erklären, daß z. B. in der Mitte eines Präparates die Stäbchen in raschester Fahrt dahinwirbelten, während am Rande eine Zone bestand, wo die meisten Bakterien sich nicht fort bewegten, dafür aber umso lebhafter auf der Stelle mit den Geißeln schlugen. In dieser Randzone waren die Geißeln ganz besonders gut zu sehen, weil sie vom Körper abgespreizt gehalten wurden, während die Geißeln an den schnell beweglichen viel schwerer sichtbar waren, weil sie dicht an den Leib geschmiegt, fast parallel zu ihm getragen wurden. Daß es die eigentümlichen Verhältnisse dieser Zone sein mußten, die die Unterschiede in der Schnelligkeit der Bakterien und in der Haltung der Geißeln hervorrief, sieht man auch daraus, daß Bakterien, die von der Mitte des Präparates in die Randzone gelangten, alsbald anfangen erheblich langsamer zu werden und von der Rotation zur Gleitbewegung übergingen, wobei sie ihre Geißeln gleichfalls seitwärts stellten, sodaß diese nunmehr bedeutend besser in Erscheinung traten, als bei den schnell rotierenden Stäbchen in der Mitte des Präparates. —

Auch konnte mehrfach beobachtet werden, daß die Geißeln im Präparat während der Beobachtung allmählich an Stärke zunahmen, oftmals einfach deshalb, weil die Bewegung mit der Länge der Zeit langsamer wurde und die Geißeln deshalb besser erkannt werden konnten.

Es konnte aber auch mit Sicherheit beobachtet werden, daß unter der Einwirkung des Lichts bzw. der Wärme Geißeln, die man vorher kaum oder garnicht gesehen hatte, nun plötzlich deutlich sichtbar wurden, wobei in den meisten Fällen nur wenig später die betreffenden Individuen bewegungslos wurden und abstarben. Es dürfte kein Zweifel sein, daß es sich hierbei um gewisse Quellungserscheinungen handelt.

Schließlich dürfte das Nachlassen der Spannung in den Geißeln, wie wir es beim Uebergang aus schneller Bewegung zur Ruhe häufig beobachten können, ebenfalls zu einer Verbreiterung des Geißeldurchmessers und damit zu einer besseren Erkennbarkeit beitragen. Denn ebenso, wie eine Spirochäte sich in der Bewegung fast zu einem geraden Stabe strecken kann, ebenso werden auch die Geißeln in der Bewegung m. o. w. gestreckt und erscheinen dann dünner.

Aus all dem, was allein über die Präparation zu sagen war, ergibt sich ohne weiteres, wie schwierig es ist, den wahren Ursachen der Geißelsichtbarkeit auf die Spur zu kommen, da zu den Verschiedenheiten des Präparates nun noch die Verschiedenheiten des Individuums und die der Kulturphase hinzutreten, und man ersieht, wie überaus vorsichtig man in der Bewertung der verschiedenen Einflüsse sein muß, ehe man ihnen eine entscheidende Mitwirkung bei der Sichtbarmachung zubilligen darf.

Immerhin konnte durch Verbringen von *Proteus*-Bakterien derselben Kulturphase in Gummilösungen verschiedener Konzentrationen mit Sicherheit festgestellt werden, daß mit zunehmender Konzentration des Mediums eine Verbesserung der Geißelsichtbarkeit bis zu einem gewissen Grade bewirkt wurde, indem die Geißel dicker und leuchtender wurde, daß aber über diesen Punkt hinaus, der etwa bei einer 10proz. Konzentration der Gummilösung lag, keine Verbesserung zu erzielen war. Insbesondere gelang es auf

keinen Fall, mit höheren Konzentrationen der Medien Geißeln, die man in einer 10proz. Lösung nicht gesehen hatte, dann sichtbar zu machen, sei es, daß es sich um Geißeln peritricher Bakterien im Anfangsstadium, sei es, daß es sich um besonders feine monotriche Geißeln handelte.

Hieraus dürfte der Schluß gezogen werden, daß der erhöhte Brechungsindex des Mediums bei der Sichtbarmachung keine Rolle spielt, was auch seine Bestätigung in der früheren Beobachtung fand, daß in einer niedrig prozentigen Gelatinelösung mit dem gemessenen Brechungskoeffizienten von 1,335 die Geißeln erkennbar waren, während sie in Brühe mit dem höheren Koeffizienten von 1,336 gemeinhin nicht zu sehen waren.

Schließlich aber wurde der Gedanke, daß der höhere Brechungskoeffizient eine Rolle bei der Sichtbarmachung spiele, ganz aufgegeben, als es nämlich gelang, mit einer Proteuskultur, die sich durch eine geradezu auffallend gute Geißelsichtbarkeit bei Untersuchungen in 5proz. Gummilösung auszeichnete, gleich gute Resultate in einer 1proz. Gummikonzentration zu erzielen. Als mit derselben Kultur die Geißeln auch in Brühe und schließlich sogar in Leitungswasser (in diesen beiden Medien allerdings schwächer), gesehen werden konnten, war nunmehr bewiesen, daß der höhere Brechungskoeffizient nicht mehr als die Ursache der Geißelsichtbarkeit angesehen werden konnte, sondern daß andere Gründe dafür maßgebend sein mußten.

Einen wichtigen Fingerzeig, welchem Umstand denn nun die bessere Sichtbarkeit der Geißeln in viskösen Medien zuzuschreiben war, gab die Beobachtung, daß mit zunehmender Verdünnung des Mediums die Dicke der Geißeln nachließ, dafür aber die Zahl der Geißeln an den einzelnen Individuen zunahm. Man hatte schließlich in Brühe und in Wasser jetzt auch im Dunkelfeld annähernd das Bild, was man sonst nur im gefärbten Geißelpräparat sieht: nämlich ein Gewirr unzählig vieler feinsten Geißeln. Diese Erscheinung kann nur so gedeutet werden, daß die ursprünglich vorhandenen Geißelzöpfe bei der Ueberführung in flüssigere Substrate sich in immer feinere Geißelzöpfchen auflösen.

Ob man nun im Wasser auch die einzelnen Primärgeißeln sehen kann, so wie in den gefärbten Bildern 43—45 auf Tafel III, erscheint fraglich, weil die Sichtbarmachung darin mit Hilfe des Dunkelfeldes nicht immer gelingt, sondern sich auf Ausnahmefälle beschränkt.

Es ist also wahrscheinlicher, daß man im Wasser auch nur, wenn auch allerfeinste Zöpfchen sieht, die sich trotz des Wechsels vom zähen zum flüssigen Medium erhalten haben, daß also die Sichtbarwerdung auf einem biologischen Effekt beruht, nämlich der Verflechtung mehrerer Einzelfäden zu einer dickeren Einheit. Dies läßt sich auch daraus herleiten, daß Proteusbakterien, die man in Wasser aufgeschwemmt und dann nach einiger Zeit abgetötet hat, niemals Einzelfäden zeigen. (Die wenigen Geißeln, die man ev. sieht, lassen sich unschwer als Zöpfe erkennen.)

Genau so ist es mit *Spirillum volutans*. Hier kann man zwar in Brühe, physiolog. Kochsalzlösung und auch in Leitungswasser an den beweglichen Spirillen Geißeln erkennen, aber es sind Zöpfe, die sich bei den Spirillen besser erhalten als bei den Bakterien. Schwemmt man aber Spirillen in Wasser auf, tötet sie darin ab und schüttelt die Aufschwemmung kräftig, so erhält man im Dunkelfeld ebenso wenig Geißeln wie bei Proteusbakterien, während im gefärbten Präparat die bekannten Geißelbüschel auftreten, Büschel, bei denen entweder alle Fäden gleichmäßig dünn sind (Tafel VI, 107), oder aber neben einzelnen Fäden auch Teilzöpfe vorkommen. (Tafel VI, 97).

Im Dunkelfeld sieht man jedenfalls immer nur die dickeren Geißelzöpfe, die Einzelgeißeln verschwinden. Daß tatsächlich immer eine größere An-

zahl Fäden dazu gehören, um einen sichtbaren Zopf im Dunkelfeld zu bilden, wurde durch einen besonderen Fall sehr deutlich gemacht. Eine alte Spirillenkultur war durch ein Berkefeldfilter getrieben, um zu erproben, ob bei Spirillen ein filtrierbares Stadium vorkommt. Das sofort nach der Filtration im Dunkelfeld geprüfte Filtrat zeigte keine Spirillen. Trotzdem ging das Filtrat nach einigen Tagen an, ergab wieder Spirillen, jedoch merkwürdigerweise viel kleinere als die Ausgangskultur. Man konnte sie direkt als Zwergformen bezeichnen¹⁾. Beweglichkeit vorzüglich, aber keine Spur von Geißeln im Dunkelfeld. Im gefärbten Kontrollpräparat sah man jedoch deutlich an allen Spirillen polständige Geißeln bezw. Geißel-Büschel, nur waren die Büschel viel dünner als bei normalen Spirillen, und hatten nie mehr als höchstens 4—5 Einzelfäden.

Hieraus erhellt, daß zur Sichtbarkeit der Geißeln im Dunkelfeld immer eine gewisse Dicke notwendig ist, daß also auch dem Ultramikroskop bestimmte Grenzen gesetzt sind. Deshalb wäre es auch wohl denkbar, daß M. Zuelzer (36) an ihren *Bact. spirilloides* n. sp. im Dunkelfeld nur eine Geißel, nämlich die passiv nachgeschleppte gesehen hat, die andere aber, die in Wirklichkeit die Bewegung verursachte, nicht erkannt hat, weil sie zu fein für das Dunkelfeld war. Daß bei ihrem neuen Organismus auch an jedem Pol eine Geißel auftreten kann, zeigt ihre Abbildung auf Tafel II oben rechts.

Aus meinen Untersuchungen im Dunkelfeld und im gefärbten Geißelpräparat geht jedenfalls hervor, daß bei den Spirillen die eine Geißel dick und die andere so dünn sein kann, daß man sie in vivo nicht sieht. (S. auch Tafel VI, 101 u. 104).

Es bliebe noch die Frage zu erörtern, ob es sich bei der Verzopfung um eine zufällige Verflechtung von verschiedenen Geißeln, also um ein passives Geschehen handelt, oder ob die Verzopfung auf eine aktive Tätigkeit der Bakterien zurückzuführen sei.

In letzter Zeit habe ich mehrfach beobachtet, wie lange Proteusfäden mit stark verzopften lateralen Geißeln unter der Einwirkung des Bogenlichts, das als Störungsreiz wirkt, ihre Bewegung urplötzlich einstellen, ihre Geißeln abspreizen und hierbei ihre Zöpfe in immer feinere Teile zerlegen, bis sie schließlich vollkommen verschwinden. Schaltet man die Lampe für einige Sekunden aus und dann wieder ein, so kann man sehen, wie sich an den betreffenden Individuen plötzlich wieder Geißeln zeigen, wie diese Geißeln wieder parallel zur Körperachse gestellt werden, und wie die Stäbchen schließlich unter erneuter schraubenförmiger Bewegung vorwärts gleiten, wobei ganz deutlich zu sehen ist, daß die bisher dünnen Geißelzöpfe allmählich wieder ihre alte Stärke erreichen.

Hieraus geht klar hervor, daß die Verzopfung und Entfaltung der Geißeln in das Belieben und Vermögen der Bakterien gestellt ist, daß es nichts zufälliges oder passives ist, sondern die zweckmäßige Antwort auf bestimmte Reize (Licht, hemmende Eigenschaften des Mediums, etc.).

In zähflüssigen Medien, wie 7proz. Gelatine beschränkt sich die Verzopfung nicht nur auf die Geißeln eines Individuums, sondern es schließen sich häufig bei Typhus- und Proteus-Bakterien mehrere Individuen zusammen, und zwar nicht nur 2, wie auf dem Bilde 28, Tafel II, sondern gar nicht selten 4 und noch mehr, die dann förmliche Arbeitsgemeinschaften mit besonders starken Zöpfen bilden (Textfigur 1). Bringt man dann eine solche Kultur einige Zeit in Brühe, so lösen sich sehr bald die „Gemeinschaften“, und man sieht im Dunkelfeld nur



Fig. 1. Gemeinsame Verzopfung mehrerer Typhusstäbchen als Folge der Kultivierung in einem stark viskösen Medium (7proz. Gelatine bei 22°).

1) Da der Versuch mit anderen Filtern nicht wieder gelang, muß man annehmen, daß der betreffende Filter für kleinere Formen durchlässig war.

noch Einzelstäbchen sich bewegen, weil der Grund der Verzopfung, die Viscosität des Mediums, weggefallen ist.

Fassen wir das Resultat unserer Untersuchungen über die Sichtbarkeit der Geißeln peritrich begeißelter Bakterien zusammen, so ergibt sich, daß man im allgemeinen nur Geißelgemeinschaften oder Geißelzöpfe im Dunkelfeld sieht, daß aber die Einzelgeißel zu dünn ist, um im Dunkelfeld erkannt zu werden. Hieraus folgt, daß Einthofens (4) Satz, nach dem jeder Faden, wie dünn er auch sei, im Ultramikroskop sichtbar gemacht werden könne, für die Primärgeißeln peritrich begeißelter Bakterien nicht Anwendung finden kann. Selbstverständlich mag es vorkommen, daß man namentlich bei Typhusbazillen, deren Primärgeißeln, nach der Färbung (S. Tafel IV, 73, 74 u. 80) zu urteilen, sehr dick ausfallen können, auch im Dunkelfeld Primärgeißeln sieht. Eine Sicherheit, daß es eine Primärgeißel ist, hat man ebenso wenig, als wie im gefärbten Präparat, weil die feinsten Primärzöpfchen so innig verflochten sein können, daß sie eine absolute Einheit vortäuschen.

Es wurden Versuche gemacht, durch Züchtung auf besonders günstigen Nährböden die Primärgeißeln zu verstärken. Alle derartigen Versuche blieben ohne Erfolg.

Ebenso wenig konnten die Geißeln mit einer vitalen Beizung sichtbar gemacht werden, obwohl manche Individuen Tanninlösung bis zu $\frac{1}{10}$ Proz. gut vertrugen. Geißeln nur durch Beizung im Dunkelfeld sichtbar zu machen, ist Reichert (29) gelungen. Dagegen war es nicht möglich, die Versuche Reicherts, vorher unsichtbare Geißeln durch Zusatz gewisser Elektrolyte, zu den Lösungen sichtbar zu machen, zu bestätigen. In hunderten von Versuchen ergab sich nur immer wieder, daß Geißeln, die man nicht durch Verzopfung sichtbar machen konnte, in keinem anderen Medium, wie auch immer es zusammengesetzt war, sichtbar wurden.

So erschienen die Versuche, die Geißeln monotricher Bakterien sichtbar zu machen, von vorneherein sehr ungünstig, einmal im Hinblick auf frühere Mißerfolge mit dem *Vibrio Metschnikoff* und dem *Bac. pyocyaneus*, das andere Mal im Hinblick darauf, daß durch ein visköses Medium bei einem monotrichen Organismus das wirksame Prinzip, nämlich die Verzopfung, überhaupt nicht eintreten kann.

Umso größer war mein Erstaunen, als in einer 10proz. Gummibrühe, der *Vibrio Elvers*¹⁾ ein auffallend schön gewundener, apathogener Keim, den ich in der hiesigen Institutssammlung vorfand, die Geißeln vorzüglich darbot. Sehr bald stellte es sich heraus, daß das Medium keinen Anteil an der Sichtbarkeit hatte, weil die Geißeln auch in Brühe, ja selbst in Leitungswasser gesehen werden konnten. In letzterem war allerdings die Sichtbarkeit etwas schlechter, was auf schädigende Einflüsse des Wassers beim Uebergang des Organismus von einem Medium in das andere zurückgeführt werden kann.

Organismen mit zarten Geißeln, wie Zettnows (31) *Mikrococcus sensibilis*, vertrugen z. B. nach seiner Mitteilung Wasseraufschwemmung so schlecht, daß sie innerhalb 2 Min. unbeweglich wurden und ihre Geißeln nicht mehr zu färben waren.

Vergleiche des *Vibrio Elvers* mit dem *Vibrio Metschnikoff* und *Bac. pyocyaneus* im Dunkelfeld zeigten nun eklatant, daß die Sichtbarkeit der Elvers-Geißeln nur eine Stammeseigentümlichkeit war dergestalt, daß man die Geißeln des *Vibrio Elvers* immer an allen Individuen

1) Obwohl *Vibrio Elvers* nicht ausschließlich monotrich begeißelt ist, sondern auch öfters 2 Geißeln zeigt, soll er doch in der Gruppe der monotrichen mit besprochen werden, weil bei ihm tatsächlich auch die einzelne Geißel im Dunkelfeld mit Sicherheit gesehen werden kann.

sah, die Geißeln des *Vibrio Metschnikoff* aber viel schwieriger und höchstens an 50 Proz. der Individuen, während gar die Geißeln des *Pyocyaneus* so gut wie nie zu erkennen waren.

Daß jetzt die Geißeln beim *Vibrio Metschnikoff* und beim *Pyocyaneus* überhaupt gesehen werden konnten, hatte seinen Grund in der durch Benutzung einer Objektivirislende erzielten Verbesserung der Optik, die in einer Abdrosselung überschüssiger und störender Strahlen bestand, wodurch einmal die grelle Ueberstrahlung der Geißeln durch den Bazillenkörper vermieden und ferner ein stärkerer Kontrast erzielt werden konnte.

Trotz ungezählter Versuche, die Geißeln des *Pyocyaneus*, sei es durch Verbesserung der Optik, sei es durch Verbesserung der Züchtung sichtbar zu machen, gelang es nur immer ganz ausnahmsweise, seine Geißeln einwandfrei zu erkennen, und dann auch nur an halb- oder ganz unbeweglichen Individuen, deren Geißeln sichtbar geworden waren. Ein einziges Mal nur wurden die Geißeln auch an voll beweglichen Individuen erkannt. Diese Individuen stammten aus einer Kultur, die zwecks Verstärkung der Form auf 2proz. Lithiumagar gezüchtet worden war. Nach stundenlangem Suchen — sehr lebenskräftige Stäbchen halten sich im Präparat über 24 Std. beweglich — trat plötzlich an einem Stäbchen, das von links nach rechts schwamm, deutlich am hinteren Pol eine schöne, eng gewundene Geißel auf. Nach kurzer Zeit schwamm das Stäbchen, ohne zu wenden, zurück, wobei die Geißel nunmehr dem Körper voranging. Nachdem die Aufmerksamkeit nun auf den vorderen Pol der Stäbchen gelenkt war, gelang es jetzt auch bei anderen Individuen die vorangetragene Geißel zu erkennen¹⁾.

Wesentlich leichter erkennbar als die Geißeln des *Pyocyaneus* waren die Geißeln der Choleravibrionen. Man kann sie an allen Individuen erkennen. Sie stehen etwa an der Grenze dessen, was man gerade noch im Dunkelfeld sieht. Sie sind auch noch mit der Niedervoltlampe erkennbar, wenn auch schlechter. Außerdem sind sie im allgemeinen nicht mehr mit dem Binokular, das das Bild zu sehr verdunkelt, sondern nur mit einem monokularen Tubus zu sehen. Wenn die Geißeln manchmal weniger gut erkennbar waren, so lag dies, wie später noch gezeigt werden soll, an der Kultivierung.

Die Sichtbarkeitsunterschiede der verschiedenen Geißeln im Dunkelfeld wurden dann durch die Zettnowsche Geißelfärbung einwandfrei als **Dicken**-Unterschiede der Geißel erwiesen. Hierüber geben die Figuren auf Taf. VII deutlich Aufschluß. In Fig. 129 a und b sehen wir eine *Spirochaeta pallida*, die nach Jahnelt gefärbt und im selben Maßstab, wie die anderen Bilder aufgenommen, zum Vergleich beigegeben ist. In Fig. 112—118 *Vibrio Elvers*, in Fig. 120—127 *Vibrio cholerae* und in Fig. 130—141 *Bac. pyocyaneus*. Besonders durch die Figg. 128 a und b, die den *Vibrio Elvers* zusammen mit dem *Pyocyaneus*, also unter vollkommen gleichen Bedingungen gefärbt zeigen, wird der Dickenunterschied der Geißeln überzeugend klar, und es leuchtet ein, warum man die Geißeln des *Vibrio Elvers* im Dunkelfeld gut und die des *Pyocyaneus* im Dunkelfeld gemeinhin **nicht** sehen kann. Die Geißel des *Vibrio Elvers* ist hier fast so dick wie die *Spirochaeta pallida*, in Wirklichkeit ist sie aber nicht halb so dick. Die Figg. 128 a und b sind absichtlich überbeizt und überfärbt, um die schwer färbbare *Pyocyaneus*-Geißel im Bilde deutlich zu machen, man sieht es auch an dem dunkleren Untergrund. Für einen Vergleich zwischen *Pallida* und der *Vibrio Elvers*-Geißel eignen sich die Bilder in Figg. 112—118 besser, weil sie normal

1) In letzter Zeit ist es mir mehrfach gelungen, *Pyocyaneus*-Geißeln im Dunkelfeld zu sehen bei Kulturen, die in Serumwasser (9:1) gewachsen waren und auch darin untersucht wurden.

gefärbt sind. Wir sehen hier, daß die Geißel etwa halb so dick ist wie die Pallida. Das stimmt auch mit der Beobachtung im Dunkelfeld überein, wo die Pallida stets mit Leichtigkeit gegenüber der schwerer sichtbaren Vibrio-Geißel zu erkennen ist.

Von allen Bakteriengeißeln ist die des Vibrio Elvers die dickste, sie ist dicker als die des Cholera-Vibrio, und diese wieder dicker als die des Pyocyaneus, so daß also die Ergebnisse der Färbung sehr gut mit den Beobachtungen im Dunkelfeld übereinstimmen.

Wie dick die Bakteriengeißeln in Wirklichkeit sind, ist schwer zu sagen, weil wir sie wegen der Beugungserscheinungen im Dunkelfeld nicht mit Sicherheit messen können, und weil wir im gefärbten Präparat nicht wissen, um wieviel die Beize und Färbung die Geißeln verdickt. Bei den Bakterienkörpern beträgt der Unterschied nach Zettnows Messungen (31) etwa das Doppelte, weil das sonst ungefärbte Ektoplasma mit in Erscheinung tritt. Bei der Geißel dürfte er ebenso viel betragen. Nehmen wir nach der Sichtbarkeit im Dunkelfeld und nach der Dicke im gefärbten Präparat die Geißel des Vibrio Elvers = $\frac{1}{2}$ mal so dick an als die Spirochaeta pallida (vergleiche die Pallida in Fig. 129 mit der Geißel des Vibrio Elvers in Fig. 112—116), so würden wir, da die Dicke der unversilberten Spirochaeta pallida mit 0,2—0,3 μ bekannt ist, bei der Geißel des Vibrio Elvers auf eine Dicke von 0,1—0,15 μ kommen, bei der halb so dicken Cholera-Geißel auf eine Dicke von 0,05 μ und bei der noch feineren Pyocyaneus-Geißel auf eine Dicke von 0,025 μ . Diese Dicke würde gut übereinstimmen mit der von Lehmann-Neumann (21) für Bakteriengeißeln angegebenen Dicke von 0,02—0,03 μ und mit der von Fuhrmann (8) errechneten Dicke der Einzelgeißel von Spirillum

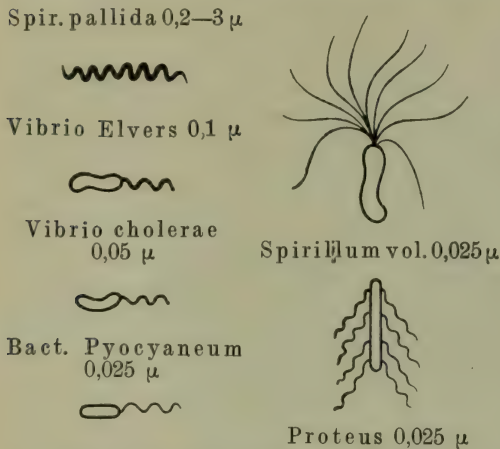


Fig. 2. Die Dicke der Bakteriengeißeln auf die Spir. pallida bezogen.

volutans von 0,02 μ .
Vergleicht man die Geißeln des Cholera-Vibrio als die kleinsten mit Sicherheit noch erkennbaren Einheiten mit den kleinsten Ultramikronen eines Goldsols im Dunkelfeld, die eine berechnete Dicke von 30—40 $\mu\mu$ haben, so erscheinen jedenfalls die Geißeln des Vibrio dünner als die kleinsten Ultramikronen, was allerdings in der größeren Lichtschwäche der organischen Substanz gegenüber den Metallen begründet sein mag. Immerhin hätte man auf diese Weise einen Anhalt, daß die Berechnung annähernd richtig ist und sieht, wie außerordentlich fein eine einzelne Geißel in Wirklichkeit ist.

Durch die Geißelfärbung wurden aber nicht nur die Dickenunterschiede der Einzelgeißeln bei den Vibrionen und dem Pyocyaneus klar gestellt, es wurde auch ein Vergleich der primären Einzelfäden bei Proteus und bei Spirillum volutans mit den Solitärgeißeln der monotrichen möglich. Hierbei zeigte es sich in der Tat, daß die Einzelfäden vielgeißelter Bakterien und Spirillen in jedem Fall dünner sind, als wie z. B. die Solitärgeißel des Cholera-Vibrio (vgl. einen Einzelfaden aus dem Proteus-Bild in Taf. II, 34 und einen solchen aus dem Spirillenbild Taf. VI, 107 mit einer Cholera-Geißel in Taf. VII, 122). Die Einzelfäden in der Spirillengeißel und die Primärgeißeln des

Proteus werden etwa die Dicke der *Pyocyaneus*-Geißel haben, also etwa 0,02 μ dick sein.

In Textfigur 2 sind die Dickenverhältnisse der Geißeln übersichtlich zusammengestellt.

Auch die Erfahrung im Dunkelfeld stimmt vollständig mit dieser Berechnung überein, denn während wir die auf 0,05 berechnete Cholera-Geißel noch gut im Dunkelfeld sehen können, verschwinden die Einzelfäden der Vielgeißeligen ebenso im Dunkelfeld wie die dünne Geißel des *Pyocyaneus*.

Wir sehen hieraus den großen Vorteil, der mit der Sichtbarmachung der Cholera-Geißel verbunden ist; dadurch, daß wir sie einerseits mit Sicherheit lebend darstellen und andererseits färberisch wiedergeben können, haben wir in ihr ein vorzügliches Testobjekt zum Vergleich mit allen anderen Geißeln, mögen sie lebend im Dunkelfeld oder gefärbt im Präparat verglichen werden.

Fassen wir die Ergebnisse unserer Dunkelfelduntersuchungen und die der Geißelfärbungen zusammen, so ergibt sich, daß die Sichtbarkeit der Bakteriengeißel im Dunkelfeld lediglich von ihrer **Dicke** abhängt. Erreicht die Geißel von sich aus die erforderliche Dicke, wie beim Cholera-Vibrio, so ist sie unter allen Umständen, ganz gleich, in was für einem Medium, erkennbar. Erreicht die Geißel einen größeren Dickendurchmesser als die Cholera-Geißel, dann ist sie besser als diese zu sehen, z. B. beim *Vibrio Elvers*. Wird die Dicke der Cholera-Geißel aber nicht erreicht, wie beim *Pyocyaneus*, so bleibt die Geißel unsichtbar. Ebenso unsichtbar bleiben auch alle Primärgeißeln der vielgeißeligen Bakterien, mögen sie nun seitlich peritrich oder polar lophotrich angeordnet sein, wenn sie nicht die Dicke der Cholera-Geißel erreichen. Erst durch Verbringen solcher Organismen in ein visköses Medium wird durch die Verzopfung die zur Erkennbarkeit im Dunkelfeld nötige Dicke erreicht.

Wir haben aber in der Cholera-Geißel auch ein vorzügliches Testobjekt zur Beurteilung unserer technischen Hilfsmittel und unserer Technik, wie wir aus dem folgenden Kapitel sehen werden.

Die technischen Hilfsmittel.

Die Lichtquelle.

Als Lichtquelle ist eine Liliputbogenlampe von 4—6 Ampère Stromstärke erforderlich. Entgegen meiner früheren Meinung ist es gleichgültig, ob sie mit Wechselstrom oder mit Gleichstrom gespeist wird. Mit dieser Lampe vermag man alle Geißeln bis herab zur Cholera-, Metschnikoff- und sogar bis zur *Pyocyaneus*-Geißel zu sehen. Es ist zwecklos, Lampen mit größeren Stromstärken zu nehmen, da durch die größere Helligkeit im Präparat der Kontrast leidet und das Bild fürs Auge eher schlechter als besser wird. Auch werden die Bakterien in so starkem Lichte rascher bewegungslos als bei Beleuchtung mit schwächeren Lampen. Manche Bakterien vertragen das Licht und die Wärme der Bogenlampen ausgezeichnet, auch ohne Kühler und Filter, manche dagegen sind außerordentlich empfindlich, namentlich im Jugendstadium. Gelangen z. B. 4—6 Std. alte *Proteus*-Bakterien in den Lichtkreis des Kondensors, so stellen sie wie vom Blitz getroffen ihre Bewegung ein, spreizen die Geißeln ab und gehen zugrunde. Man muß dann 1 oder 2 Kühlküvetten haben, von denen eine mit einer hellblauen Kupfersulfatlösung gefüllt ist, die als Filter wirkt und ein angenehmes blaues Licht im Präparat gibt. Bei stark empfindlichen Organismen darf man ein Gesichtsfeld nicht zu lange betrachten, sondern muß die Bilder häufig mit dem Kreutztisch wechseln.

Besser ist es in einem solchen Falle, man begnügt sich mit einer schwächeren Lichtquelle, vorausgesetzt, daß es die betreffenden Geißeln gestatten. So

liefert die N. V.-Lampe noch ganz vorzügliche Resultate bis herab zur Einzelgeißel des *Vibrio Elvers*. Ja, diese Präparate sind, weil sie gerade nur das notwendigste Licht empfangen, kontrastreicher und, weil sich die Bakterien völlig ungezwungen bewegen, schöner als manches Bogenlampenpräparat.

Der Dunkelfeldkondensor.

Als Dunkelfeldkondensor ziehe ich den Spiegelkondensor von Leitz jedem anderen vor, weil er die kontrastreichsten Bilder liefert, kontrastreicher jedenfalls als der Paraboloidkondensor. Auf den Kontrast aber kommt bei der Geißelsichtbarmachung alles an, wie wir später auch bei der Wahl des Objektivs und der Objektiv-Irisblende sehen werden. Je kontrastreicher das Bild, um so feinere Einzelgeißeln sind zu sehen.

Auf diesen Vorzug des Spiegelkondensors gegenüber dem Paraboloidkondensor habe ich in meiner früheren Veröffentlichung (25) hingewiesen. Neumüller (27) sucht nun meine Einwendungen gegen den Paraboloidkondensor, daß feinere Geißeln nicht mit ihm zu sehen seien, zu entkräften, indem er das wohlgelungene Bild eines begeißelten *Proteus* im Paraboloidkondensor bringt. Nun sind aber, wie ich eingangs bereits erwähnte und wie die beigelegte Taf. I sehr deutlich zum Ausdruck bringt, gerade bei *Proteus* sehr große Unterschiede in der Geißelstärke möglich. Das Neumüllersche Bild zeigt einen *Proteus* im günstigsten Stadium der Begeißelung, also mit dicken Geißeln. Nur solche eignen sich überhaupt zum Photographieren, denn feinere Geißeln können zwar noch vom Auge gut wahrgenommen werden, liefern aber mäßige Bilder (siehe *Vibriogeißel* = Fig. 21, Taf. I).

Feinste Geißeln, z. B. die des *Vibrio cholerae* und Metschnikoff, liefern überhaupt keine brauchbaren Photographie, weil die Geißel stets vom Körper überstrahlt wird. Mit dem Bilde eines dickbegeißelten *Proteus* kann mich also Neumüller nicht widerlegen.

Es gibt aber, wie wir jetzt wissen, ein besseres Testobjekt: die Solitärgeißel des Cholera-*Vibrio*. Eingehende Vergleiche ein- und desselben Präparates und zwar ein- und derselben Stelle im Spiegel- und Paraboloidkondensor ergaben einwandfrei, daß die Sichtbarkeit der Cholera-Geißel an lebenden und gut beweglichen Vibrionen nur durch den Spiegelkondensor mit Sicherheit gewährleistet ist. Im Paraboloidkondensor sieht man nur ganz ausnahmsweise und nur an den günstigsten Objekten das Schimmern einer Geißel. Erst wenn unter der Einwirkung der Lichtstrahlen die Cholera-Vibrionen langsamer werden und absterben, kann man an den toten bzw. an den absterbenden Individuen mit dem Paraboloidkondensor die Geißeln sichtbar machen.

Meine frühere Behauptung, daß feinere Geißeln mit dem Paraboloidkondensor nicht zu sehen seien, läßt sich also jetzt durch ein einwandfreies Testobjekt beweisen.

Das Objektiv mit Irisblende und die Okulare.

Zur Regulierung der Spiegel- und Kondensorstellung benutze ich jetzt ein stärkeres Trockenobjektiv (den Apochr. 8 mm) und stärkere Okulare (10–15 \times) als früher. Diese Kombination gestattet in den meisten Fällen schon ein Urteil, ob in einem Präparat die Geißeln sichtbar sind oder nicht. Bis zum *Vibrio Elvers* sind die Geißeln auf diese Weise zu sehen, wenn natürlich auch feinere Einzelheiten, wie Form der Geißeln, Spitze und Ansatzstelle,

noch nicht zu erkennen sind. Man benutze das Trockenobjektiv in Verbindung mit einem Binokular zunächst nur, um sich einen orientierenden Ueberblick über die günstigsten Stellen im Präparat zu verschaffen, d. h. man suche, wo der beste Untergrund ist, frei von den in jedem Präparat auftretenden und so empfindlich störenden Niederschlägen, die den Untergrund weiß statt schwarz erscheinen lassen können, frei auch von Luftbläschen und frei von stark leuchtenden Verunreinigungen; und ferner suche man die Stelle, wo die Bakterien in der besten Verteilung und in der günstigsten Bewegung anzutreffen sind.

Um die feineren und feinsten Geißeln zu sehen, muß man allerdings auf das Binokular verzichten und zum monokularen Tubus greifen. Es kann dann sogar beim Cholera-Vibrio gelingen, an günstigen Stellen und an günstigen Objekten die Geißeln mit einem starken Trockensystem zu erkennen, und so sind sie schon von Reichert (29) gesehen worden, als man die Verwendung von Oelimmersionen bei Dunkelfeldbeleuchtung noch nicht kannte.

Dagegen scheint die Beobachtung von Enderlein (5), der die Cholera-Vibriogeißel im hängenden Tropfen, also im Hellfeld nach Abblenden der Abbe-Blende vorübergehend aufblitzen sah, wenig wahrscheinlich, da der Kontrast im abgeblendeten Hellfeld nicht stark genug ist, ein so lichtschwaches und dünnes Fädchen wie die Cholera-Geißel sichtbar zu machen.

Will man aber auch die Geißeln an den weniger günstigen Individuen einer Cholerakultur oder gar beim Vibrio Metschnikoff oder Pyocyaneus sehen, dann **muß** man ein Immersionsobjektiv anwenden. Dringend erforderlich ist es, daß das Objektiv mit einer verstellbaren **Irisblende** versehen ist, um alles unerwünschte Licht auszuhalten. Da der Bakterienkörper das Licht immer stärker zurückwirft als die Geißel, das eine Mal mehr, das andere Mal weniger, so wird zunächst hierdurch die Geißel fast völlig überstrahlt. Man muß dann durch Zuziehen der Objektivirisblende den Körper so verdunkeln, daß die Geißel noch erkannt werden kann. Diese Einstellung einmal gemacht, genügt in den meisten Fällen für ein und dasselbe Präparat. Man hat es aber mit der Blende in der Hand, jederzeit die Beleuchtung zu ändern und die für jedes Objekt günstigste Beleuchtung herauszufinden.

Erst durch Verwendung einer Irisblende im Objektiv wurde es mir möglich, die allerfeinsten Geißeln beim Vibrio Metschnikoff und Pyocyaneus sichtbar zu machen.

Als geeignetste Oelimmersion für Geißelstudien im Dunkelfeld empfehle ich 1/7 a. Es ist zur Beobachtung schnell beweglicher Objekte praktischer als 1/12 a. Außerdem liefert es der geringeren num. Apertur wegen einen stärkeren Kontrast. Auf den Kontrast aber kommt, wie immer wieder betont werden muß, alles an.

Für die allerfeinsten Geißeln ist das geeignetste Okular ein 10fach vergrößerndes. Stärker vergrößernde machen das Bild der Geißeln matt oder lassen es ganz verschwinden.

Objektträger und Deckgläser

müssen selbstverständlich peinlich sauber und möglichst fettfrei sein. Leider ist das Glas der gewöhnlichen und geschliffenen Objektträger in den seltensten Fällen so rein und durchsichtig, daß man ein absolutes schwarzes Dunkelfeld erhält. Unzählige mikroskopisch feinste Teilchen werden bei der starken Beleuchtung im Glas sichtbar und machen im Verein mit Niederschlägen häufig ein Präparat völlig untauglich zu Untersuchungen feinerer Geißeln. Für solch feinere Untersuchungen ist es praktisch, sich Objektträger aus optischem Glas herstellen zu lassen.

Von der Verwendung fertiger Dunkelfeldkammern bin ich ganz abge-

kommen, da man hier das Deckgläschen nicht so scharf aufdrücken kann, als auf einen Objektträger. Nur dadurch aber ist es möglich, eine ganz dünne Schicht im Präparat zu erlangen.

Das Medium.

Nächst dem Kondensor und der Lichtquelle spielt das Medium für die Sichtbarmachung der Bakteriengeißeln eine ausschlaggebende Rolle. Am wenigsten vom Medium abhängig ist die Sichtbarkeit der Geißeln der lophotrichen Spirillen. Außer in destilliertem Wasser sieht man ihre Geißeln auch in Leitungswasser, physiologischer Kochsalzlösung und Brühe gut, weil die einzelnen Geißelfäden, fast stets in Form eines dicht zusammengehaltenen Schopfes arbeiten. Durch visköse Medien wird der Zusammenhalt begünstigt (siehe Taf. VI, Fig. 100—102 *Spirillum volutans* in 5proz. Gummibrühe im Dunkelfeld und 103—105 in wässriger Gummilösung gefärbt).

Die Einzelgeißeln der peritrich begeißelten Bakterien sind im entfalteten Zustand im allgemeinen gleichfalls nicht zu sehen, weil sie zu dünn sind. Da nun diese Art von Bakterien in flüssigen Medien, wie Brühe und Wasser, ihre Geißeln meist entfaltet gebrauchen, so muß man sie, um überhaupt bei ihnen Geißeln sehen zu können, in ein visköses Medium bringen, das sie zwingt, ihre Einzelgeißeln zu verzopfen.

Dabei hängt, wie wir schon gesehen haben, die Verzopfung von der Viskosität des Mediums ab, dergestalt, daß in einer 1proz. Gummi- oder Gelatine-lösung dünnere, in einer 10proz. Lösung aber dickere Zöpfe zu sehen sind.

2) hängt die Verzopfung ab von der Entwicklungsphase der Kultur. In ganz jungen Kulturen sind die Geißeln überhaupt so kurz oder stehen so spärlich, daß sie gar keine Zöpfe bilden können.

3) hängt sie ab von der Menge der vorhandenen Geißeln. Deshalb wird man immer bei dem massenhaft begeißelten *Proteus* stärkere Geißelzöpfe als bei dem spärlich begeißelten *Coli-Bazillus* sehen.

4) hängt sie ab von der Anlage einzelner Stämme, Geißelzöpfe zu bilden oder nicht. Ich besitze einen Typhusstamm, der schon in Brühe feine Zöpfchen zeigt, während bei einem anderen weder in Brühe noch in dünner Gelatine, noch in Gummibrühe irgendetwas von Zöpfen zu sehen ist. Wahrscheinlich hängt das mit der Fähigkeit der betreffenden Bakterien zusammen, sich den veränderten Verhältnissen des Mediums beim Uebergang vom Agar in die Flüssigkeit anzupassen. Solche Bakterien kann man zwingen, ihre Geißeln zu verzopfen, wenn man sie in 7proz. Nährgelatine züchtet und auch darin untersucht. Dabei spielt die Temperatur insofern eine Rolle, als bei 37° die Gelatine flüssiger ist als bei 22°. Dementsprechend zeigte der widerspenstige Typhusstamm bei 22° kultiviert, reichliche und schöne Zöpfe, ließ aber bei 37° ganz erheblich in der Zopfbildung nach.

Nur die Heubazillen bleiben auch der Gelatinezüchtung gegenüber resistent und zeigen keine Zöpfe, weil sie in Gelatine entweder unbeweglich werden oder wenig Geißeln produzieren.

Leider besteht der Nachteil, wenn man die Gelatinekultur gleichzeitig als Medium benutzt, daß bei üppiger Entwicklung die Gelatine stark verunreinigt wird und diese Verunreinigung in Gestalt unzählig vieler Kügelchen mit in das Präparat kommt, was außerordentlich störend wirkt, weil diese Kügelchen alle stark leuchten. Man muß deshalb immer das Kulturröhrchen genügend schräg halten und das Material aus der spärlich gewachsenen Grenzzone entnehmen bzw. die gewachsene Schicht mit der ungewachsenen genügend vermischen. Falls die Gelatine im Präparat zu rasch erstarrt, verdünnt man sie das nächste Mal mit Brühe und kann dann oft an den Bakterien beobachten, wie die stärkeren Zöpfe wieder in feinere gespalten werden.

Proteus-Bakterien und *Spirillum volutans* züchtet man besser auf der Agarplatte als in Gelatine, weil man dann die Entwicklung der einzelnen Phasen besser in der Hand hat.

Für diese Arten, wie überhaupt für alle anderen, die man nicht in Gelatine gezüchtet hat, ist eine „Gummibrühe“ das Medium, welches ich ausschließlich benutzt habe, weil es sich am besten von allen Medien bewährt hat.

Die Gummibrühe wird folgendermaßen hergestellt: zu 100 ccm normaler Brühe tut man so viel Gramm Gummiarabikum, als die Konzentration betragen soll (im allgemeinen also 5 g) und läßt das Gemisch eine Nacht kalt stehen, wodurch der Gummi löslich wird. Alsdann wird die Gummibrühe 15—20 Min. im Dampftopf gekocht und nach dem Abkühlen mit Eialbumin geklärt, hierauf gründlich filtriert, bis sie absolut durchsichtig ist, in Röhrchen abgefüllt und sterilisiert. Im allgemeinen benutze ich nur eine 5proz. Lösung. Sie liefert besonders mit den langen *Proteus*-Fäden vorzügliche Resultate. Alle Aufnahmen auf Taf. I sind mit ihr hergestellt. Die 10prozentige wird nur ausnahmsweise angewendet, wenn die 5proz. zur Verzopfung nicht genügt, oder um besonders dicke Geißelzöpfe zu erlangen, was beim *Proteus* leicht gelingt. Mit Rücksicht darauf, daß bei hohen Konzentrationen leichter Ausfällungen und Niederschläge im Präparat entstehen, beschränkt man sich auf die niederen Konzentrationen.

Als Medium für die monotrichen hat natürlich eine visköse Flüssigkeit nur den Vorteil, die allzu schnelle Bewegung zu hemmen. Auf der anderen Seite besteht die Gefahr, daß durch ein visköses Medium das Bild, wenn auch nur in minimalster Weise und kaum merkbar, getrübt wird. Aber diese für andere Bakterien belanglose Trübung kann hier die Wahrnehmung feiner Geißeln erschweren oder unmöglich machen.

Deshalb benutzt man für die Untersuchung monotricher Bakterien ein möglichst dünnflüssiges Medium. Man könnte an Wasser oder physiologische Kochsalzlösung denken. Doch fühlen sich viele Bakterien hier nicht annähernd so wohl und sind so gut beweglich, wie in Brühe, ganz abgesehen davon, daß in Wasser eine Schädigung durch osmotische Störung vorkommt (Gottschlich, 10).

Es ist auffallend, wie manche Bakterien, die in Brühe oder Gummilösung höchst beweglich sind, in Wasser verbracht, sofort unbeweglich werden. Bringt man z. B. einen gut beweglichen und begeißelten *Proteus* von einer Agarkultur nacheinander in mehrere Tropfen Wasser, so hört meistens schon im zweiten Tropfen die Beweglichkeit vollkommen auf. Sicherlich üben die verschiedenen Spannungsverhältnisse der Medien einen ungünstigen Einfluß nicht nur auf den Bakterienkörper, sondern auch auf die Geißeln aus. Man sieht dies auch daran, daß bei der Geißelfärbung, wo die Bakterien in Wasser aufgeschwemmt werden müssen, damit man Niederschläge vermeidet, sehr häufig die Geißeln verquellen oder verschleimen. Siehe auch Zettnows Beobachtung (31 u. 33).

Aus diesen Gründen untersucht man monotriche Bakterien lieber in Brühe, am besten natürlich in der Brühe, in der sie gewachsen sind. Da aber die Brühe noch mehr wie die Gelatine bei üppigem Wachstum der Kolonie verunreinigt wird und dann störende Niederschläge im Dunkelfeldpräparat auftreten, hemmt man das Wachstum durch Verdünnung der Brühe mit der doppelten Menge Leitungswasser und durch niedrige Temperaturen (22°). Solche Kulturen kann man unverdünnt im Dunkelfeld untersuchen. Ist die Beweglichkeit im Anfang zu stark, läßt man das Präparat einige Zeit stehen, andernfalls untersucht man in 5proz. Gummibrühe.

Die zur Geißelsichtbarmachung besten Kultivierungsmethoden.

Die Art der Kultivierung ist für die Begeißelung von ausschlaggebender Bedeutung. Bei der außerordentlichen Feinheit der Geißeln genügen schon

geringe Unterschiede im Dickenwachstum, um die Geißeln im Dunkelfeld sehen oder nicht sehen zu können. Es ist bekannt, daß auf festen Nährböden im Laufe längerer Zeit die Beweglichkeit vollkommen aufhören kann, weil der Anreiz zur Geißelbildung gefehlt hat. Solche Beobachtungen sind mehrfach beschrieben worden. Ich selbst konnte sie bei einem Typhusstamm, einem *Vibrio Metschnikoff*- und einem *Cholera*-Stamm bestätigen. In solchen Fällen genügt es nicht, wie Zettnow (33) empfiehlt, den betreffenden Stamm einige Zeit auf flüssigen Nährboden zu übertragen, um wieder Beweglichkeit zu erzielen, die Geißelproduktion ist endgültig verloren gegangen, und diese Bakterien bleiben unbeweglich.

Doch kann man Bakterien, die vorübergehend unbeweglich geworden sind, obwohl sie noch Geißeln haben, durch Züchten in Brühe wieder beweglich machen. Dies gilt auch für Bakterien, die durch Züchten auf Karbolagar nach Braun und Schaeffer (2) unbeweglich gemacht worden sind, falls die Passagen auf Karbolagar nicht zu lange dauern. Ein *Proteus*-Stamm, der 2 Wochen auf Karbolagar gehalten war, wurde, in Brühe kultiviert, schon nach 2 Std. mit den ersten Stäbchen wieder beweglich¹⁾.

Man müßte deshalb denken, daß flüssige Kulturen den trockenen vorzuziehen seien. Dies trifft auch ganz entschieden für die monotrichen zu. Ich habe mehrfach die Beobachtung gemacht, daß die auf dem Agar gewachsenen Choleravibrionen gar nicht oder schlechter beweglich waren, und daß bei ihnen die Geißeln im Dunkelfeld schlechter zu sehen waren als bei den im Schwitzwasser gewachsenen Individuen. Für diese Arten ist also die flüssige Kultivierung eine Notwendigkeit. Da mit der Kultivierung in unverdünnter Brühe bei 37° die schon erwähnten Nachteile verbunden sind, so eignet sich ganz schwach beimpftes Schwitzwasser und mit Leitungswasser verdünnte Brühe (2:1) und eine Temperatur von 22° besser für unsere Zwecke.

Man hat dann nach 18—24 Std. eine Kultur, die den Höhepunkt noch nicht überschritten hat, in der alle Individuen noch genügend Nahrung zur besten Entwicklung vorfinden und deshalb eine optimale Entwicklung auch ihres Geißelapparates stattfindet.

Ist aber die Kulturflüssigkeit infolge üppiger Entwicklung stark getrübt, dann besteht die Gefahr, daß die Kultur ihren optimalen Entwicklungsgrad schon überschritten hat, daß der Nahrungsraum zu knapp geworden ist oder Stoffwechselprodukte die Entwicklung ungünstig beeinflußt haben, und daß deshalb Geißeln im Dunkelfeld nicht mehr erkennbar sind. Dieser Punkt ist bei der Kultivierung ganz besonders zu beachten, wenn man gute Resultate bei den feiner begeißelten Arten haben will.

Deshalb sind ältere flüssige Kulturen, auch wenn noch beweglich, ungeeignet für Geißelstudien.

Welchen Einfluß die Einschränkung des Lebensraumes auf die Begeißelung ausübt, kann man am besten bei *Proteus* beobachten, der auf der Höhe seiner Entwicklung durchweg Fäden von 50—100 μ Länge und mit Tausenden von Geißeln hervorbringt (Taf. II, 34), der aber, je mehr der Nahrungsraum durch die Vermehrung eingeschränkt wird, kleiner in der Form und ärmer an Geißeln wird, bis schließlich manche Individuen nur noch zwei oder eine Geißel tragen (Taf. II, 38), oder gar die Geißeln ganz verlieren²⁾. Solche Individuen findet man vorwiegend in den Knöpfen.

1) Daß ein *Proteus*, der auf Karbolagar nicht schwärmt, trotzdem beweglich und begeißelt sein kann, darüber habe ich an anderer Stelle (26) berichtet.

2) Dasselbe, was hier in natürlicher Weise vor sich geht, konnten Braun und Schaeffer (2) auf künstlichem Wege durch Verwendung karbolhaltiger und nährstoffarmer Nährböden erreichen, so daß aus begeißelten Bakterien schließlich geißellose wurden.

Da man diese Entwicklung nur auf festen Nährböden beobachten kann, so empfiehlt es sich, *Proteus* nur auf Agar und zwar auf der Platte zu ziehen. Man nimmt am besten 2proz. Agar, der aber kein Schwitzwasser auf der Oberfläche mehr haben darf, damit die Kolonie nicht auseinander läuft. Impft man dann etwa eine Stecknadelkuppe in die Mitte der Platte und stellt sie bei Zimmertemperatur auf den Brutschrank, so fangen die Bakterien zunächst an zu wachsen, ehe sie sich teilen. Da der Wachstumsreiz größer ist als der Teilungsreiz, finden wir jetzt außergewöhnlich plumpe Stäbchen. Nachdem sich diese geteilt haben, also in der 2. Generation, wachsen sie allmählich zu jenen riesigen Fadenformen heran, wie eine in Taf. II, 34 abgebildet ist.

Erst wenn eine gewisse Anzahl solcher Gebilde vorhanden ist, erfolgt das Schwärmen, und zwar stets in Gruppen, exzentrisch vom Mittelpunkt nach der Peripherie, obwohl schon lange vor dem Ausschwärmen die einzelnen Bakterien begeißelt und beweglich sind. Es müssen also ganz besondere Gründe sein, daß die Bakterien im Anfang noch nicht schwärmen. Ich vermute, daß die Schwarmfähigkeit mit der Größe der Bakterien insofern zusammenhängt, als mit der Größe auch der Wasserstoffwechsel steigt, und daß erst die großen *Proteus*-Fäden imstande sind, die Menge Wasser aus dem Agar zu ziehen, die nötig ist, um darin schwimmen zu können.

Daher erklärt es sich auch, daß die Schwärmer im Anfang, wo noch wenig Wasser vorhanden ist, höchst vorsichtig und zaghaft vorgehen und nur in Gemeinschaft von mehreren eng aneinander geschmiegt, schwimmenden Inseln gleich (Hauser, 13), vorwärts kommen können. Sie schwärmen auch nicht einfach gerade aus ins Weite, sondern kehren gern im Bogen nach dem Ausgangspunkt zurück. Wird auf einer solchen Fahrt ein Faden von seiner Gruppe getrennt, so bleibt er meistens hilflos liegen, bis er von einer nachfolgenden Gruppe weitergeschoben wird¹⁾.

Nach Ueberwindung eines gewissen Raumes, etwa nach 1—2 cm, hören die Fäden zu schwärmen auf, machen Halt und teilen sich. Es kommt zu Koloniebildungen, so daß allmählich alle Lücken und Zwischenräume zwischen den einzelnen Stäbchen und Gruppen ausgefüllt werden. Das Auffallende ist nun, daß alle Schwärmer, ganz gleich, ob sie von der Impfstelle nach rechts oder nach links, nach oben oder nach unten gewandert sind, ziemlich genau den gleichen Raum in der gleichen Zeit zurücklegen und auch zu gleicher Zeit Halt machen. Dadurch entsteht um die Impfstelle ein Kreis von verblüffender Regelmäßigkeit. Ihm schließen sich bei erneutem Schwärmen konzentrische Ringe von ziemlich gleichem Durchmesser an, bis die ganze Platte ausgefüllt ist.

Diese Eigentümlichkeit des *Proteus* muß man kennen, wenn man z. B. zu Demonstrationszwecken die großen, gut begeißelten Mutterschiffchen fassen will. Man wird diese Exemplare immer am äußersten Rande der Schwarmzone finden. Nur wird natürlich ein Unterschied sein, ob der Rand aus jungen Stäbchen besteht, die sich eben erst entwickelt haben, oder ob er aus älteren Individuen besteht, die schon einige Zeit geschwärmt haben.

In ersterem Falle sind die Geißeln kurz, dünn und zart und deshalb gar nicht oder schlecht, in letzterem Falle aber sind die Geißeln länger und dichter und deshalb vorzüglich zu sehen.

Die stärksten Geißeln sieht man an der 2. Generation, die sich dem Rande der Petri-Schale nähert, das ist, wenn die Kolonie in der Mitte der Platte angelegt worden war, bei niedriger Zimmertemperatur meist am 2. Tage.

1) Alle diese Bewegungsvorgänge konnte man prachtvoll auf dem *Proteus*-Film sehen, den Herr Levinthal auf der Tagung der Deutschen Mikrobiologischen Gesellschaft in Bern am 1. 9. 28 zeigte.

Dann ist der günstigste Zeitpunkt für die Entnahme von Material zur Geißelsichtbarmachung gekommen, denn die Kolonie befindet sich nun auf dem Höhepunkte der Geißelentwicklung. Die Bilder, die man jetzt im Dunkelfelde sieht, sind einzigartig, nicht nur wegen der Länge der Stäbchen und wegen der Dicke der Geißelzöpfe, sondern auch wegen der Gleichmäßigkeit der Bewegung, mit der die großen Fäden im Schmucke ihrer ganzen Geißelpracht dahinrudern.

Nachdem der Rand der Petri-Schale erreicht ist, wenn also keine neuen Gebiete mehr besiedelt werden können, werden auch keine von den langen Fadenformen mehr gebildet, sondern diese zerfallen in immer kleinere Segmente. An diesen kurzen Stäbchen sind die Geißeln auch eine gewisse Zeit, etwa bis zum 3. Tage, vorzüglich zu sehen, sie sind dann etwas länger und auch etwas dicker als an den Mutterzellen (vgl. Fig. 5 mit Fig. 2 auf Taf. I, wo dieser Unterschied sehr schön zum Ausdruck kommt). Aber mit fortschreitender Teilung in immer mehr Zellen verengt sich auch der Nahrungsraum, und Stäbchen und Geißeln werden immer dürftiger (Taf. I, Fig. 12 u. 14). Zu diesem Zeitpunkt kann es passieren, daß man gar keine Geißeln mehr im Dunkelfeld erkennen kann.

Schließlich hört mit der Verdunstung des Oberflächenwassers auf der Platte auch die Beweglichkeit auf, nicht aber die Vermehrung. Besonders anpassungsfähige Zellen bilden neue Kolonien, die in die Höhe wachsen. Diese sind nur noch ganz spärlich oder gar nicht mehr begeißelt. Gelingt es aus solchen Kolonien, geißellose abzuimpfen, so hat man die sogenannte O-Form, die nicht mehr schwärmt. In vielen Fällen gelingt es aber nicht. Zwar schwärmen die neuen Kulturen anfangs nicht aus, und man glaubt schon, die Trennung sei gelungen, wenn man aber die Platten nach einigen Tagen genauer prüft, sieht man, daß sich an den Rändern doch eine Schwärmzone gebildet hat. Manchmal hatte sich diese Schwärmfähigkeit erst am 10. Tage eingestellt, ein Beweis dafür, daß sich noch begeißelte Individuen in den O-Kolonien befanden, oder daß sich aus zeitweise unbegeißelten wieder begeißelte entwickelt hatten.

Es wäre noch zu bemerken, daß *Proteus* (X 22) nur bei Zimmertemperatur schwärmt, nicht aber bei 37°, wahrscheinlich, weil das von ihm aus dem Nährboden entnommene Wasser bei 37° zu rasch verdunstet, sich also nicht genug Flüssigkeit bilden kann, um den Schwärmern Gelegenheit zum Schwimmen zu geben. Die rasche Verdunstung der Flüssigkeit bei 37° scheint auch der Grund zu sein, daß manche Autoren (zit. nach Heim, 15) verschiedene bewegliche Bakterien nur bei 22° und darunter beweglich fanden, nicht aber bei 37°.

Natürlich gedeiht *Proteus* auch in Gelatine. Da er diese aber verflüssigt, kann man die Entwicklung nicht so genau verfolgen. Andererseits produziert er aber im Gelatineröhrchen bei 22° schöne Geißeln und außerdem jene eigenartigen Kugeln (Taf. I, Fig. 19), daß sich ein solcher Versuch wohl lohnt.

Alle anderen peritrich oder lophotrich begeißelten Bakterien, also Typhus, Paratyphus, Coli, Faecalis alcaligenes, Spirillum parvum, die Anaërobier und andere kultiviert man für die Geißeldarstellung am besten in einer 7proz. Nährgelatine bei 22°. Nur *Spirillum volutans* wächst besser auf der Agarplatte bei Zimmertemperatur, ohne an Beweglichkeit und Geißelstärke einzubüßen.

Die Herstellung der Dunkelfeldpräparate.

Man bringt mit einer Oese die etwa 1 cm im Durchmesser groß ist, einen Tropfen des Mediums (also Gummibrühe, Nährgelatine, Brühe etc.) auf den Objektträger und breitet ihn möglichst wenig aus. In diesen Tropfen

verrührt man vorsichtig, ohne den Objektträger zu berühren, mit einer Oese oder Nadel so viel Material aus der zu untersuchenden Kultur, daß sich der Tropfen leicht trübt. Um eine gute Verteilung von *Proteus*-Bakterien, die auf der Platte gewachsen sind, zu erzielen, empfiehlt es sich das Material nicht mit einer trockenen Oese oder Nadel zu entnehmen, sondern eine große Oese mit 5proz. Gummibrühe auf diejenige Stelle der Platte zu tropfen, z. B. die äußerste Schwarmlinie einer Kolonie, die man gerade untersuchen will, und diesen Tropfen solange stehen zu lassen, bis er sich mit Bakterien vollgesaugt hat. Nunmehr überträgt man mit einer Normalöse aus diesem Tropfen die Bakterien in den bereit gehaltenen anderen Tropfen auf den Objektträger.

Flüssige Brühekulturen, die nach der gegebenen Vorschrift angelegt worden sind, bedürfen keiner Verdünnung. Man entnimmt das Material und untersucht es unverdünnt.

Gelatinekulturen, falls sie unverdünnt zu unbeweglich sind, können auf dem Objektträger mit gleicher Menge, also mit einer großen Oese Brühe verdünnt werden.

Hierauf wird das Deckgläschen mit der Mitte auf den Objektträgertropfen gelegt und mit Fließpapier so lange vorsichtig darauf gedrückt, bis sich keine Flüssigkeit mehr aus dem Präparat absaugen läßt. Hierdurch wird die erwünschte dünne Schicht erzielt. Je dünner die Schicht, desto günstiger ist die Beobachtung. Das Ideal ist erreicht, wenn sich die Bakterien nur in einer Ebene bewegen, jedoch darf dieses Ideal nicht auf Kosten der Beweglichkeit und des Untergrundes erreicht werden. Man kann nämlich durch starkes Drücken die Schicht so dünn machen, daß der größte Teil der Bakterien herausgedrückt wird und der verbliebene Rest sich nicht mehr bewegen kann.

Außerdem ist aber mit dem starken Zusammenpressen von Objektträger und Deckglas der Nachteil verbunden, daß Ausfällungen und Niederschläge aus dem Medium und der Kultur entstehen, die wie ein Reif den ganzen Untergrund bedecken. Das ist die größte Schwierigkeit der Dunkelfeldtechnik, wenn man mit Brühe, Gelatine, Gummi und ähnlichen viskösen Medien arbeitet. Deshalb empfehle ich, nur so viel auf das Deckgläschen zu drücken, als nötig ist, um den Ueberschuß der Flüssigkeit aus dem Präparat zu entfernen. Kann man nach dem Absaugen das Deckgläschen gerade noch etwas verschieben, so hat man ungefähr die richtige Flüssigkeitsschicht, die einerseits den Bakterien genügende Beweglichkeit gewährt, andererseits aber störende Strömungen verhindert.

Um diese Strömungen, die auch entstehen, wenn die Flüssigkeit vom Rande her verdunstet, zu vermeiden, umrandet man das Deckgläschen mit Vaseline.

Wie ist das Bild des begeißelten *Bazillus* im Dunkelfeld mit dem des gefärbten Präparates in Einklang zu bringen?

Schon in meiner früheren Mitteilung (25) habe ich auf den auffallenden Unterschied zwischen dem gefärbten Präparat und dem Bild im Dunkelfeld hingewiesen, sei es, daß man bei den vielgeißeligen zu wenig oder bei den eingeißeligen gar keine Geißeln sieht.

Was nun die eingeißeligen anbelangt, so wissen wir jetzt, daß man ihre Geißeln immer sehen kann, wenn die Geißel eine gewisse Mindestdicke (*Vibrio cholerae*) erreicht. Alsdann stimmt das Bild des Dunkelfeldes mit dem des gefärbten völlig überein, d. h. man sieht eine Geißel, die polar entspringt (vgl. Dunkelfeldbild Taf. I, 21 mit dem gefärbten Bild auf Taf. VII, 113), höchstens, daß die Geißel im gefärbten Präparat bei der Präparation die schönen engen Spiralwindungen mehr oder weniger verliert und häufig auch etwas verbogen wird.

Wird aber diese Geißeldicke nicht oder nur in der Hälfte der Fälle erreicht, dann sehen wir im Dunkelfeld entweder gar keine Geißeln (*Pyocyaneus*), oder aber nur bei der Hälfte der Exemplare (*Vibrio Metschnikoffi*), obwohl die unbegeißelt scheinenden ebenso beweglich sind wie die begeißelten.

Was die vielgeißeligen (die peri- und lophotrichen) anbelangt, so wissen wir jetzt, daß ihre Einzelgeißeln im allgemeinen dünner als die der Cholera-vibrien sind und deshalb im Dunkelfeld gemeinhin nicht gesehen werden können.

Hieraus folgt, daß wir einen gefärbten Bazillus mit 1 oder 2 Geißeln (Taf. IV, Fig. 60) nicht indentifizieren dürfen mit einem ähnlichen Bild im Dunkelfeld wie z. B. Tafel I, 9 und 10.

Ebenso dürfen wir das Bild einer gefärbten Spirille mit 1 Geißel (Textfigur 3) nicht gleichsetzen dem Dunkelfeldbild, Tafel VI, 102, denn das, was wir im Dunkelfeld als eine Geißel sehen, ist in Wirklichkeit ein aus mehreren feinen Einzelfäden bestehender Zopf, eng aneinander liegend bei den Spirillen oder verflochten bei den Bazillen.

Wir müssen deshalb Dunkelfeldbilder, wie Taf. I, 8 u. 9, gleichsetzen den gefärbten Bildern in Tafel III, 45 und ein Spirillenbild im Dunkelfeld, wie Tafel VI, 102, auflösen in ein solches, wie wir es in Bild 99 sehen.



Fig. 3.

Da die Geißelzöpfe meist bis zur Basis verflochten sind, so kann man im Dunkelfeld nur ausnahmsweise sofort sehen, ob man einen Zopf vor sich hat, aus wieviel Teilen er besteht und wie die Verzopfung zustande gekommen ist, ebenso wenig, wie man im gefärbten Präparat bei dicken Geißeln sehen kann, ob es sich um eine dickere Primärgeißel oder um ein feines, nicht aufgelöstes Zöpfchen handelt.

Es entsteht nun die Frage: woraus bestehen die Zöpfe?

Bestehen die Zöpfe aus unselbständigen Teilfäden, gewissermaßen aus Geißel-Fibrillen, die erst bei der Präparation aufgespalten werden, eine Frage, die auch M. Zuelzer (36) aufgeworfen hat, oder handelt es sich um die Verzopfung selbständiger Gebilde?

Da diese Frage mit Hilfe des Dunkelfeldes nicht gelöst werden konnte, aus dem einfachen Grunde, weil man im Dunkelfeld die Aufspaltung der Zöpfe bis in ihre primären Bestandteile nicht verfolgen kann, wurden umfangreiche Färbungen vorgenommen mit dem Zweck, möglichst die Ansatzstelle der Geißeln, ferner die Art und Weise der Verzopfung und die Zahl der einzelnen Geißeln festzustellen. Es wurden gefärbt: *Proteus*, *Typhus*, *Paratyphus B.*, *Coli*, *Rauschbrand*, *Fäcalis alcaligenes*, *Spirillum parvum*, *Spirillum volutans*, *Vibrio Elvers*, *Vibrio cholerae* und *Pyocyaneus*, siehe Tafel II bis VII mit den entsprechenden Erläuterungen. Es wurde so lange und so oft gefärbt, bis eindeutige, klare Bilder vorlagen. Es wurden auch Kulturen zu verschiedenen Zeitpunkten gefärbt, um Einblick in die Entstehung und das Wachstum der Geißeln zu gewinnen und um die Frage der Begeißelung während der verschiedenen Entwicklungsstadien der Bakterien zu klären.

Die Technik der Geißelfärbung.

Es wurden verschiedene Färbungen (Peppler, Loeffler) neben der Versilberungsmethode von Zettnow angewandt und an Vergleichsausstrichen festgestellt, daß man, wenn überhaupt die Fixation der Geißeln gelungen ist, mit allen Methoden gute Resultate erzielen kann, daß aber zur photographischen Wiedergabe die Versilberungsmethode nach Zettnow am besten geeignet ist,

weil sie auch allerfeinste Geißeln kontrastreich färbt. Nach wie vor hat sich die Originalvorschrift von Zettnow, wie sie zuletzt von ihm im Heim (15) angegeben ist, am besten bewährt: Wenn trotz peinlichster Befolgung der Vorschrift Mißerfolge zu verzeichnen sind, so liegt das nicht an der Methode, sondern an der außerordentlich schwierigen Materie, denn nichts in der mikrobiologischen Technik ist wohl schwieriger als die einwandfreie Fixation eines so labilen Gebildes, wie es ein Geißelfaden ist.

Eine absolut sichere Methode die Geißeln zu fixieren gibt es nicht. Die größte Schwierigkeit besteht in der richtigen Verdünnung der Aufschwemmung. Nimmt man viel Material und wenig Wasser, erhält man leicht Niederschläge, nimmt man viel Wasser und wenig Material, so ist die Zahl der gut gefärbten Individuen im Verhältnis zu den schlecht gefärbten zu klein, weil selten alle Individuen gleich gut gefärbt werden. Die hauptsächlichsten Schwierigkeiten sind:

1) das Abreißen der Geißeln; besonders häufig beim Paratyphus, Mäusetyphus und alten Spirillen beobachtet, fast nie bei den Vibrionen und *Pyocyaneus*. Es entsteht hauptsächlich durch zuviel Strömung in der Ausstrichsflüssigkeit beim Antrocknen; man muß sehr wenig Flüssigkeit und diese sehr dünn austreichen, damit sie schnell trocknet und möglichst wenig Strömung entsteht. — 2) das Verquellen der Geißeln; es ist die Folge ungenügender Härtung, also von zu wenig Osmiumsäure oder zu viel Wasser beim Ausstrich. 3) das Verquellen des Bazillenkörpers und die dadurch bewirkte Verschleimung der Geißeln (Zettnow (33)) ist die Folge von ungenügender Fixierung mit Osmiumsäure oder von Quellung während des Antrocknens. Mehr Osmiumsäure, als in der Vorschrift angegeben, und dünnere Ausstriche helfen ab. — 4) die Körnelung der Geißeln, die häufig beim *Spirillum volutans* und *Vibrio cholerae* beobachtet wurde, ist die Folge von zu viel Osmiumsäure. — 5) die Geißel färbt sich gar nicht oder nur an bestimmten Stellen des Präparates. Z. B. bei Choleravibrionen färben sich oft nur die Geißeln in der Mitte des Ausstriches, aber nicht in der Randzone. Man muß dann heiß beizen, wenigstens 10 Min. bei ungefähr 58°. — 6) der Untergrund färbt sich mit; Grund: Bestandteile des Nährbodens sind mit in die Aufschwemmung gelangt. Deshalb sind Gelatine- und Blutplattenkulturen gänzlich ungeeignet zur Geißelfärbung. Trotzdem kommen aber auch Braunfärbungen des Untergrunds bei vorsichtigster Entnahme von gewöhnlichen Agarkulturen vor. In den meisten Fällen entstehen sie wohl dadurch, daß die Bakterien selbst Nährbodenbestandteile mit in den Tropfen bringen oder darin ausscheiden (*Proteus*). Gewiß kann man die Bakterien durch immer stärkeres Verdünnen mit Wasser, indem man sie von einem Wassertropfen immer in einen neuen verbringt, ziemlich vollständig von den Resten des Nährbodens befreien, aber ganz sicher übt, wie immer wieder auch in vivo beobachtet wurde, daß dauernde Verändern des Milieus einen schädigenden Einfluß auf die Geißeln aus, sei es, daß sie abreißen oder daß sie verquellen; deshalb wurden stärkere Verdünnungen und Auswaschungen vermieden, und die Bakterien nie in mehr als 2 Tropfen nacheinander verbracht.

Je stärker die Beize ist, je mehr Antimon sie enthält, je länger und heißer man sie anwendet, umso mehr andre Teilchen färben sich mit und verschlechtern das Bild. Dasselbe gilt, wenn man einen Ueberschuß an Silber in dem Aethylaminsilbergemisch hat. Trotzdem kommt man ohne diese Verstärkungshilfsmittel bei Geißeln, die sich schwer färben lassen, nicht aus, z. B. bei den Cholerageißeln, hier muß man die Beize verstärken und heiß beizen und auch einen Ueberschuß an Silber im Farbgemisch in Kauf nehmen, um überhaupt die Geißeln färben zu können.

Es wurde auch einwandfrei beobachtet, daß sich nicht nur verschiedene Arten verschieden gut färben, z. B. *Vibrio Elvers* besser als Cholera, Typhusbazillen besser als Mäusetyphus, sondern daß auch innerhalb ein und desselben Stammes erhebliche Schwankungen vorkommen. — In solchen Fällen nützt auch alle Nachbeizung und Färbung nichts, es vermehrt nur den Niederschlag.

Schließlich kommt es vor, daß dieselbe Aufschwemmung auf verschiedene Deckgläschen ausgestrichen ganz ungleiche Resultate bei ganz gleicher Beizung und Färbung ergeben kann, und ferner, daß ein Präparat so gut wie vollständig mißlingt, dafür aber an einer kleinen Stelle unvergleichlich gut gerät (Fig. 24, Tafel II stammt aus einem solchen Präparat).

Schließlich wäre noch daraufhin zu weisen, daß manche Präparate mit der Zeit verblassen, besonders, wenn man sie in Kanadalbalsam einbettet, der mit Xylol verdünnt ist. Aus diesem Grunde bettet man besser in Paraffinum liquidum ein und umrandet dann mit Wachs.

Die Ergebnisse der Färbung.

Wenn auch bei den Spirillen und den lophotrich begeißelten Stäbchen die aus mehreren Geißelfäden bestehenden Büschel überwiegen, so besonders beim *Spirillum volutans* und dem *Bac. flagellotortus* Zettnow, so kommen doch namentlich beim *Spirillum parvum*, wie die Bilder 95d und e auf Tafel V zeigen, Individuen mit nur einer Geißel vor. Zettnow (34) hat eine Geißel, wenn auch äußerst selten bei seinem *Bacillus flagellotortus*, gleichfalls beobachtet und ich konnte Exemplare mit 1 und 2 Geißeln auch bei *Spirillum volutans*, besonders häufig aber bei den schon erwähnten Filtratspirillen, feststellen.

Diese Einzelgeißeln sind nicht dicker, als die entsprechenden Fäden in den Büscheln und haben auch dieselbe Länge und dieselbe Form. Daraus folgt, daß die Einzelgeißel dieselbe Rolle spielen muß, wie die Fäden in den Büscheln, und daß diese Fäden nicht Teilstücke einer höheren Einheit, sondern selbständige Elemente sind.

Hiermit stimmt auch die Beobachtung im Dunkelfeld überein. Man kann nämlich an ruhenden Spirillen, deren Geißeln noch in Tätigkeit sind, die Aufspaltung bis zu einem gewissen Grade, etwa bis auf 4—5 „Teilschöpfe“ [Buder (3)] sehen. Auch Reichert (29), Fuhrmann (8), M. Zuelzer (36) haben eine Aufspaltung gesehen, bloß daß die Menge der Einzelfäden, die Reichert gesehen haben will, nämlich bis zu 15, unmöglich stimmen kann, weil er dann schon Einzelfäden vor sich gehabt haben müßte, diese aber, wie gezeigt wurde, zu dünn sind, um im Dunkelfeld erkannt zu werden.

Man muß aber annehmen, daß die Aufspaltung der Büschel noch weiter geht: wahrscheinlich bis zu den letzten Einzelfäden; denn man sieht auch ruhende Spirillen, ohne etwas von Geißeln, zu erkennen, Spirillen, die zweifellos begeißelt sind, weil im gefärbten Kontrollpräparat alle Spirillen fast ausnahmslos Geißeln haben.

Die vorzügliche Beweglichkeit der Filtratspirillen, an denen wir im Dunkelfeld auch keine Geißeln sahen, zeigt aber, daß tatsächlich eine oder wenige (im gefärbten Präparat nachweisbare) Geißeln genügen, um dieselbe Wirkung wie ein großes Geißelbüschel hervorzubringen.

Ähnliche Verhältnisse wie bei den Spirillen treffen wir auch bei den seitenständig begeißelten Bakterien. Auch hier könnte man beim Vergleich eines *Proteus*-Faden im Dunkelfeld (Tafel I, 1) mit dem eines in Wasser gefärbten (Tafel II, 34) auf den Gedanken kommen, daß die vielen Einzelfäden nur Teilstücke, also Fibrillen der im Dunkelfeld gesehenen Geißeln seien. Jedoch können wir bei längerer Betrachtung mitunter sehen, daß die Geißeln keine

starren homogenen Einheiten sind, sondern, daß häufig ihre Zahl an ein und demselben Individuum wechselt, daß z. B. ein Stäbchen, das eben noch mit auffallend vielen und zarten Geißeln dahinschwamm, plötzlich unter der Einwirkung des Lichtes Halt macht und die Geißeln verzopft, oder es kann vorkommen, worüber schon berichtet wurde, daß sich dickere Geißeln in dünnere auflösen und schließlich dem Auge ganz entschwinden. Nur ein diffuses Flimmern zeigt dann, daß noch Bewegung vorhanden ist. Der Uebergang vom dicken zum dünnen Zopf geht so unmerkbar, so fließend und schnell vor sich, daß man ihn mit Sicherheit nicht verfolgen kann. Ebenso wie der umgekehrte Vorgang, die Verzopfung zu stärkeren Zöpfen ganz unmerklich und rasch vor sich geht, so daß das Auge den einzelnen Phasen nicht zu folgen vermag.

Schließlich kommen auch bei den peritrich begeißelten Stäbchen genau wie bei den Spirillen Individuen mit nur einer Geißel vor (siehe *Proteus* auf Tafel III, Fig. 49, 50, 56 u. 57 und *Typhus* auf Tafel IV, Fig. 60, 64).

Wir müssen deshalb die Vermutung, daß die Bakteriengeißel aus mehreren Fibrillen besteht, aufgeben und sprechen die im gefärbten Präparat erscheinenden Einzelfäden bei mehrgeißeligen Individuen als selbständige Elemente an, die sich zu homogen erscheinenden und dann im Dunkelfeld gut sichtbaren Zöpfen vereinigen.

Auch die Unterscheidung von Haupt- und Nebengeißeln, die A. Fischer (6) bringt, ist nach den Ergebnissen der Färbung nicht aufrecht zu erhalten und wird von Frache (7) in seiner umfangreichen Studie über die Geißeln der Bakterien abgelehnt. Dagegen können wir sehr häufig bei *Proteus*, aber auch gelegentlich bei den Spirillen, statt der scheinbaren Haupt- und Nebengeißeln stärkere und schwächere Zöpfe sehen. (Teilschöpfe Buders).

Ob außer diesen Zöpfen nicht auch noch allerfeinste Einzelgeißeln unverzopft mitschwingen, scheint nicht ausgeschlossen, könnte aber exakt erst bewiesen werden, wenn alle, auch die allerfeinsten Geißeln im Dunkelfeld erkennbar wären.

Wie und warum entstehen Geißelzöpfe?

Daß Geißelzöpfe nichts zufälliges sind, sondern ihre Entstehung einem biologischen Effekt verdanken, haben wir bereits früher gesehen.

Bei den Spirillen wird die Entstehung und Bildung begünstigt durch die gemeinsame Ursprungsstelle, das dichte Zusammenstehen und die völlig gleichgerichtete Arbeitsleistung der Einzelgeißeln. Eine Verflechtung findet hier nicht statt, wohl aber scheint eine schleimige Verklebung bei älteren Geißeln vorzukommen, die auch nach dem Abwerfen den Zusammenhang der einzelnen Fäden gewährleistet.

Bei den Stäbchenbakterien bilden sich Zöpfe, trotzdem die einzelnen Geißeln hier viel weiter auseinanderstehen. Hier entstehen durch wirkliche Verflechtung echte Zöpfe. Die Länge des Körpers und die Menge der Geißeln spielen hierbei eine große Rolle.

Die langen viel- und peritrich begeißelten *Proteus*-Fäden verzopfen ihre Geißeln derart, daß die gesamten Geißeln sich in ziemlich gleichmäßigen Abständen zu annähernd gleich starken Geißelzöpfen verflechten, so daß, da diese Verzopfung auf beiden Längsseiten stattfindet, ein solcher Faden einem paarig gefiederten Blatt vergleichbar paarig begeißelt erscheint (siehe Tafel I, 1—3).

Bei den kurzen viel weniger stark begeißelten *Typhus*stäbchen (man vergleiche nur ein spärlich begeißeltes *Typhus*stäbchen auf Tafel IV mit dem üppig begeißelten *Proteus* auf Tafel III, 43 u. 44) werden häufig die Geißeln des ganzen

Körpers, also sowohl die der rechten wie die der linken Hälfte, zu einem dickeren Zopf verflochten, wobei der Zopf entweder in der Verlängerung der Längsachse (Textfigur 4) oder schräg nach unten (Textfigur 5) gehalten wird. Daß tatsächlich die Geißeln verschiedener Seiten zu einem Zopf zusammengedreht werden, sieht man nicht nur im Dunkelfeld, sondern kann man auch ausgezeichnet im gefärbten Präparat auf Tafel II 39, 40, 41 erkennen, wo man die Herkunft der einzelnen Geißeln ganz genau bis zur Ursprungsstelle verfolgen kann.

Die Gründe der Verzopfung liegen, wie schon erkannt, im Medium, d. h. in seiner viskösen Beschaffenheit. Aber auch die Art der Verzopfung ist von ihr abhängig. Je dünnflüssiger ein Medium um so dünner und zahlreicher sind die Zöpfe, je dickflüssiger ein Medium um so dicker und weniger zahlreich sind sie. Natürlich ist die Verzopfung nicht bei allen Individuen durchaus gleichmäßig. Es gibt stets Individuen mit dickeren und solche mit dünneren Zöpfen. Selbst ein und dasselbe Individuum kann in ein und demselben Medium seine Geißeln verschieden stark verzopfen.



Fig. 4.



Fig. 5.

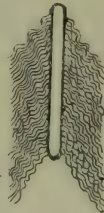


Fig. 6.



Fig. 7.



Fig. 8.

Fig. 4. Schema der Verzopfung bei einem Typhusstäbchen (von oben gesehen).

Fig. 5. Stellung der Geißeln von der Seite gesehen.

Fig. 6—8. Die Abhängigkeit der Zopfbildung von der Viskosität des Mediums. Fig. 6. Stäbchen in gewöhnlicher Brühe. Fig. 7 in Brühe mit 5 Proz. Gummizusatz. Fig. 8 in Brühe mit 10 Proz. Gummizusatz.

Untersucht man ein langes Proteus-Stäbchen in verschiedenen viskösen Medien, so kann man folgende ziemlich typischen Bilder erhalten:

- 1) in Brühe oder Wasser ein Bild wie Textfig. 6,
- 2) in 5proz. Gummibrühe ein Bild wie Textfig. 7,
- 3) in 10proz. Gummibrühe ein Bild wie Textfig. 8.

Aus der Gleichmäßigkeit der Zöpfe und der Gleichmäßigkeit der Abstände sehen wir schon, daß die Verzopfung nichts Zufälliges, sondern etwas Gesetzmäßiges ist, das von den Stäbchen aus bestimmter Ursache zu einem bestimmten Zweck vorgenommen wird.

Die Ursache ist die Viskosität, der Zweck das Vorwärtskommen. Genau wie ein mehrsitziges Ruderboot besser vorwärts kommt, wenn ein Mann mit 2 guten und breiten Schaufelrudern rudert, als wenn z. B. 8 Mann mit dünnen Stangen rudern würden, genau nach demselben Prinzip verzopft auch ein Stäbchen seine dünnen Geißeln zu einer stärkeren Einheit, wobei es nur wunderbar bleibt, mit welcher Exaktheit die Verzopfung und mit welcher Mühelosigkeit der Uebergang von einer dünneren Verzopfung zu einer dickeren und umgekehrt vor sich geht.

Die Verzopfung erfolgt nicht immer nur paarig, sondern auch in einer Gruppierung zu 3. Besonders gut kann man diese Verteilung auf Tafel I, 7 und Tafel II, 30 sehen.

Die Stärke der Zöpfe ist aber auch vom Alter der betreffenden Individuen und vom Entwicklungsstadium, indem sich eine Kultur befindet, abhängig.

Ganz junge Bakterien haben kurze Geißeln, s. *Proteus* Tafel III, 51, Typhus Tafel IV, 61, 62, 65, *Spirillum* vol., Tafel VI, 108, oberes Büschel.

Sie sind so kurz, daß sie sich noch nicht verzopfen können und deshalb sieht man an so jungen Individuen im Dunkelfeld noch keine Geißeln. Ebenso haben ganz junge Stäbchen von *Proteus*, die sich eben erst aus alten unbeweglichen Formen entwickelt haben, weniger Geißeln als ein Stäbchen auf der Höhe der Entwicklung. Man vergleiche nur die Reihe der Bilder in Tafel III, 46—49 und 50—53 mit Bild 43 und 44.

In der ersten Bildreihe handelt es sich um eine fast kokkenähnlich gewordene Variante des *Proteus*, die aus einem 14 Tage alten Knopf stammt, auf frischen Agar überimpft anfangs vorwiegend unbegeißelte kokkoide Formen erzeugte und auch zunächst keine Neigung zum Schwärmen zeigte. Erst nach etwa 24 Std. — im Gegensatz zu frischen Kulturen, die schon nach 4—6 Std. anfangen zu schwärmen — begann diese Kultur zu schwärmen und zeigte dann auch im Dunkelfeld das eigenartige Bild begeißelter Kokken, bis sich im Lauf des nächsten Tages die Kokkenform fast verlor und die üblichen langen Fadenformen wieder vorherrschten.

In der zweiten Bildreihe 50—53 handelt es sich um Stäbchenformen aus einem anderen Knopf. Sie zeigt, wie die Begeißelung allmählich zunimmt, wie aber selbst die beiden längeren Stäbchen in 52 und 53 noch spärlich begeißelt sind im Vergleich zu dem voll entwickelten *Proteus* im Bild 44.

In der dritten Reihe von 56—59 sehen wir gleichfalls Stäbchen, die einem Knopf entstammen. Sie zeigen einwandfrei polar entspringende Geißeln und sogar kleine Geißelbüschel (58). Auch hier werden diese Formen schließlich bei Ueberimpfung auf frischen Nährboden wieder von ganz normal begeißelten Langstäbchen überwuchert, die ihrerseits mit dem Alter der Kultur wieder kleiner und spärlicher begeißelt werden (Tafel II, 38—41).

Die Versuche durch rasches Abtöten der Kultur und, durch vorsichtiges Verdünnen und Ausstreichen die natürliche¹⁾ Zopfform der Geißeln auch im gefärbten Präparat zu erhalten, führten nur ganz ausnahmsweise zu brauchbaren Resultaten. Man sieht daraus, wie labile Gebilde die Zöpfe sind. Wahrscheinlich werden sie im Leben durch bestimmte Spannungen zusammengehalten und lösen sich nach dem Tode, wenn die Spannung aufhört, im Wasser rasch auf.

Trotzdem kann man aus einzelnen Photogrammen doch einen gewissen Einblick in ihre Entstehung gewinnen. Wir sehen z. B. bei den Spirillen, daß alle Einzelfäden so dicht zusammen stehen, daß sie wie aus einem Loche herauskommen scheinen (VI, 97 und 106), während bei dem langen *Proteus*-Faden, Tafel II, 35 am Vorderende der unteren Seite gut zu erkennen ist, wie immer erst nach 1—2 μ Zwischenraum eine kleine Geißelgruppe entsteht und wie selbst innerhalb dieser Gruppe noch kleine Zwischenräume zu sehen sind. Im Gegensatz hierzu lassen beim Typhus mehrere sehr gut halberhaltene Zöpfe darauf schließen, daß hier ein Wachstum von Geißeln nur an bestimmten eng begrenzten Stellen stattfindet, während die übrigen Körperteile vollkommen frei bleiben (s. Taf. IV, 79, 80 u. 81).

Da sich die Gummilösung im Dunkelfeld für die Erhaltung der Zopfform so gut bewährte, wurde jetzt der Versuch gemacht, *Proteus*-Bakterien in reiner gut filtrierter 5proz. Gummilösung aufzuschwemmen, diese Aufschwemmung auf ein Deckgläschen auszustreichen und genau wie sonst nach Zettnow zu färben.

1) Daß der auf der Agarplatte schwärmende *Proteus* tatsächlich seine Geißeln verzopft, wurde in vereinzelt Fällen sowohl durch Lebendbeobachtung als auch durch Geißelfärbung agarfixierter Präparate [Methode Kuhn-Sternberg (20)] erkannt.

Gleich die ersten Färbungen ergaben ein ausgezeichnetes Resultat. Die Geißelzöpfe waren vorzüglich erhalten, die Uebereinstimmung des Bildes mit dem Dunkelfeld war vollkommen. Vor allem sieht man bei Betrachtung der Fig. 23, 24, 25, daß die Verzopfung hier von der Spitze bis zur Basis durchgeführt ist. Deshalb kann man selbst an der Eintrittsstelle der Geißeln in den Körper keine Spur einer Verzweigung erblicken, obwohl doch, wie wir schon in Fig. 35 sahen, die Einzelgeißeln nicht so nahe zusammenstehen, wie bei den Spirillen. Dadurch kommt es, daß zwischen den einzelnen Zöpfen Lücken von 1—2 μ sichtbar werden, die bei gewöhnlicher Aufschwemmung in Wasser meist durch aufgespaltene Einzelgeißeln und durch gefärbten Schleim verdeckt sind. Man sieht ferner im gefärbten Gummipräparat die schön erhaltenen an Spirochäten erinnernden Windungen und ihre verblüffende Regelmäßigkeit sowie das Auslaufen in eine scharfe Spitze im Gegensatz zur Wasserfärbung, wo die Geißeln meistens stumpf enden [Gotschlich (11)]. Man sieht ferner, daß zwar die Geißeln eine gewisse Gleichheit im Durchmesser haben, daß aber neben dicken auch dünne Geißelzöpfe und selbst Primärgeißeln vorkommen (Fig. 25).

Im allgemeinen scheinen aber alle Geißeln bei der Verzopfung beteiligt zu sein, wenigstens kann man dies aus den Fig. 26—31 entnehmen. Diese stellen Kurzstäbchen aus einer 3 Tage alten Plattenkultur dar, wo die Individuen vorwiegend wenige, aber dafür dicke Geißelzöpfe tragen. In Fig. 29 sieht man, wie ein solcher Zopf sowohl aus Geißeln der rechten wie der linken Körperhälfte gebildet wird, in 28 sogar die Verzopfung von zwei Individuen nebeneinander. In Fig. 37 ist die Zopfentstehung aus mehreren heterogenen Geißeln ebensogut zu erkennen wie die allerkleinsten, feinen und sehr steilen Windungen.

Die Technik dieser Färbung ist genau wie die sonst übliche, nur daß man statt Leitungswasser 5proz. reine Gummilösung nimmt, in der man die Bakterien aufschwemmt. In dieser Aufschwemmung müssen die Bakterien vor Verdunstung geschützt etwa eine Viertelstunde bleiben, damit sie sich gut verzopfen. Die Hauptsache ist nun, daß man beim Ausstreichen der Oese ziemlich stark aufdrückt, damit man eine recht dünne Schicht erhält. Dazu ist eine kurze, nicht zu dünne Platinöse erforderlich. Der Gummi färbt sich gelblich bis hellbraun mit, ohne aber bei der Betrachtung im Mikroskop zu stören. Erscheint er dunkelbraun, war die Gummikonzentration zu dick oder der Ausstrich zu dick aufgetragen. Man muß langsam eintrocknen lassen, damit keine Risse und Sprünge entstehen. Zieht man 3mal durch die Flamme, so ist der Ausstrich fest genug fixiert, um alle Abspülungen ertragen zu können. Ein großer Vorteil der Gummiaufschwemmung ist, daß die Annahme der Silberfärbung erleichtert wird: alle Geißeln erscheinen schwärzer gefärbt. Dadurch ist man in der Lage, auch schwächere Beizungen, z. B. Fontana-, Peppler- und Loeffler-Beize mit nachfolgenden Färbungen anzuwenden. Gute Resultate wurden auch mit Zettnow-Beize und Giemsa-Färbung gemacht, Fig. 32 u. 36 auf Taf. II ist auf diese Weise entstanden. Die Geißeln werden hier durch die vorangegangene Beizung blau, der Körper violett. Ohne Beizung färben sich Geißelzöpfe, die man durch die Kuhn-Sternbergsche (20) Agarfixierung erhält, nach Giemsa rot. Ganz besonders schöne Doppelfärbungen erzielt man bei *Spirillum volutans* durch Loeffler-Beize und polychromes Methylenblau nach Unna. Die Volutingranula färben sich dann rot, Plasma und Geißeln hellblau. Ein anderer Vorteil der Gummifärbung ist die Erfassung lebenswahrer Momente. So sieht Fig. 36 auf Taf. II aus, als ob es die Momentaufnahme eines schnell rotierenden Langstäbchens sei und Fig. 37, als ob ein Stäbchen auf der Stelle geißelte, während die Figg. 26—31 genau den Dunkelfeldfiguren 6—16 auf Taf. I entsprechen.

Die Anwendung der Gummiaufschwemmung zur Geißelfärbung empfiehlt sich bei allen vielgeißeligen Bakterien, also Proteus, Typhus, Paratyphus, Rauschbrand, Tetanus und allen Spirillen. Sie verbietet sich bei allen eingeißeligen, weil auch der dünnste Gummiüberzug schon die Geißelbeizung und Färbung erschwert. Selbstverständlich können durch Sprünge in der Schicht, durch Verzerrungen und Verlagerungen der Geißeln ebensolche Mißerfolge wie bei der Präparation in Wasser entstehen. Sie werden aber aufgewogen durch den großen Vorteil, daß Abreißen, Verquellungen und Verschleimungen der Geißeln fast gar nicht mehr vorkommen. Auch Niederschläge lassen sich — namentlich bei den Buntfärbungen — fast vollständig vermeiden.

Riesengeißelzöpfe.

Loeffler hat zuerst solche Gebilde in einer Rauschbrandkultur gefunden und sie sofort richtig als Verzopfung mehrerer Geißeln gedeutet. Auffallend ist nun, daß diese Riesenzöpfe immer frei ohne Verbindung mit den Bazillen liegen, und daß man an den beweglichen oder unbeweglichen Bakterien im Dunkelfeld niemals solche Geißelzöpfe sehen kann.

Deshalb hat die Entstehung dieser Gebilde zu den mannigfachsten Deutungen geführt und ich habe in meiner I. Mitteilung (25) die Vermutung ausgesprochen, daß es sich um nachträgliche Quellung abgeworfener Zöpfe handelt, zumal diese vorwiegend in Agarschwitzwasser von mir gefunden wurden. Nachdem ich aber auch Zöpfe von riesigem Ausmaße auf einer normalen Agarplatte gefunden habe, wo Quellung wenig wahrscheinlich ist, kann diese Deutung nicht mehr genügen.

In letzter Zeit habe ich nun sowohl im Dunkelfeld wie im gefärbten Präparat öfters sehen können, wie diese dicken Zöpfe durch zufälliges ineinanderschieben mehrerer normaldicker Zöpfe entstehen. Da die Winke lung der Geißeln immer außerordentlich gleichmäßig ist, ist es nicht verwunderlich, wenn 2 Geißeln sich so ineinander schieben, daß sie eine Einheit zu bilden scheinen.

Auf Tafel I kann man die Entstehung der Geißelzöpfe genau verfolgen. Man sieht in Fig. 1—16 Geißelzöpfe verschiedener Dicke noch in Verbindung mit dem Bakterienkörper, aber keine von ihnen erreicht die Dicke der freien Riesengeißel, wie in Fig. 17. In Fig. 18 sieht man genau, wie durch das Zusammenschieben abgeworfener Geißelzöpfe ein Riesenzopf von außergewöhnlicher Dicke im Entstehen ist. Nicht nur das man eine Lücke zwischen den beiden Zöpfen erkennen kann, man sieht auch, leider im Photogramm nur schlecht, daß der obere selbst wiederum aus 2 Teilen besteht, die genau ineinander verzahnt sind. Ebenso läßt der Riesenzopf in Fig. 17 noch eine feine Trennungslinie in der Mitte erkennen, welche zeigt, daß er eigentlich aus 2 Teilen zusammengesetzt ist.

Die Entstehung der Geißeln.

Kühnemann (19), der zuerst den *Faecalis alcaligenes* als polar und lophotrich begeißelt erkannte, war der Ansicht, daß die Geißelbüschel durch Längsteilung einzelner Geißeln entstünden. Und in der Tat sprechen viele Bilder, besonders beim Typhus, z. B. Taf. IV, 66, 71 und 75 dafür, daß eine Teilung der Geißeln stattfindet.

Auch ein Vergleich mit den Wimpern der Deckzellen, die sich wie aus der schönen Arbeit Heidenheins und Werners (14) über die Flimmerepithelien des Nebenhodens einwandfrei hervorgeht, mit der Zeit „aufpinseln“, so daß aus einer Wimper ein ganzes Büschel entsteht, könnte zu der Annahme verführen, daß bei den Geißeln der Bakterien entsprechende Verhältnisse vorliegen.

Um diese Frage zu klären, wurden *Proteus*-, *Typhus*- und *Spirillum volutans*-Kulturen ganz jung gefärbt, in der Absicht, dann vorwiegend solche Individuen anzutreffen, die nur eine ungeteilte Anfangsgeißel hätten. Als Ausgangsmaterial wurden möglichst alte unbewegliche Kulturen verwendet, in der Hoffnung, daß hier die Geißeln abgeworfen wären. Diese Hoffnung erfüllte sich leider nicht. Die Geißeln ganz alter Stäbchen waren zum Teil vorzüglich erhalten, s. Taf. II, 33, so daß es bei den Stäbchenbakterien schwierig war, zwischen jungen und alten Geißeln zu unterscheiden (zumal die jungen Geißeln sehr rasch entstehen). Eine andere Schwierigkeit bestand darin, daß in einer Kultur stets verschiedene Altersstufen und auch verschieden stark begeißelte Individuen gleichzeitig vorkommen, so daß man niemals mit Sicherheit wissen kann, ob die wenig begeißelten auch die jüngeren sind. Schließlich besteht noch eine große technische Schwierigkeit darin von ganz jungen Kulturen, die natürlich spärlich gewachsen sind, genügend Material vom Agar loszubekommen und Niederschläge durch Nährbodenbestandteile bei der diffizilen Geißelfärbung zu vermeiden.

Trotzdem konnte, bei den Spirillen wenigstens, ein ganz eindeutiges Resultat erzielt werden. Es waren nämlich in einer 36stünd. bei Ztp. gewachsenen Kultur (Sp. vol. braucht zur vollen Entwicklung bei Ztp. 3—5 Tage) so gut wie keine eingeißeligen Individuen anzutreffen, sondern die überwiegende Mehrzahl hatte schon üppig entwickelte Geißelbüschel (Taf. VI, 107). An einzelnen Spirillen aber fanden sich ganz kurze, büstenähnliche Büschel (Fig. 108 oberer Pol und 109 unterer Pol), die einwandfrei zeigen, daß die neue Geißel von Anfang an als Büschel und nicht als einzelner Faden angelegt ist. Daher kommt eine Entstehung der Geißelbüschel durch Längsteilung einzelner Fäden nicht in Frage.

Es wurden aber auch Individuen gefunden, die nur ein einziges und zwar kurzes Büschel (Textfig. 9) hatten, außerdem aber auch Spirillen von außergewöhnlicher Länge mit gar keinen bzw. 2 kurzen Büscheln. Hieraus folgt, daß die betreffenden Exemplare vorher gänzlich geißellos und unbeweglich gewesen sein müssen, daß also wie bei den Bakterien auch bei den Spirillen Individuen vorkommen, die anfangs nackt sind und sich erst später begeißeln.



Fig. 9.

Bei Stäbchenbakterien war die Entwicklung der Geißeln weniger eindeutig zu verfolgen, weil hier in einer Kultur immer neben vielgeißeligen auch wenig begeißelte vorkommen (Taf. III, 45). Immerhin ergab sich auch hier, daß z. B. *Proteus*-Stäbchen nach ganz kurzer Zeit (6—8 Std.) schon einen erheblichen Geißelbehang haben können, Taf. III, 52 und 53 und nichts deutet daraufhin, daß diese Geißeln immer nur durch Teilung bestimmter Haupt- oder Anfangsgeißeln entstanden wären. Ein Unterschied besteht allerdings in der Zahl der Geißeln zwischen den einzelnen Arten. Vergleiche den üppig begeißelten *Proteus*- mit dem wenig begeißelten *Typhus*-Faden (Taf. III, 43 und Taf. V, 88).

Beim *Typhus* sind es immer nur bestimmte Stellen, wo die Geißeln entstehen (siehe die ganze Taf. IV und Taf. V, 88) und hier häufen sich dann wohl auch die Geißeln so, daß an einer engbegrenzten Stelle mehrere Geißeln wie bei den Spirillen aus einem Loch herauszukommen scheinen (Taf. IV, 78—81).

Diese Geißeln können gleichlang sein (Taf. IV, 80 u. 81) aber auch verschiedene Länge aufweisen (z. B. in Fig. 71 oben u. 79), welche letztere Fälle ganz gegen die Hypothese der Längsteilung sprechen.

Auch die *Vibriogeißel* auf Taf. VII, 119 mit den drei ungleichlangen Teilen spricht mehr für ein Nacheinandersplassen als für eine Teilung.

Die Anordnung der Geißeln.

Die Ansatzstelle der Geißeln wird seit langem als gutes Hilfsmittel für die Systematik benutzt, und dementsprechend unterscheidet man polar und lateral begeißelte Arten. Im allgemeinen ist dieses Merkmal auch durchaus konstant. Niemals wird man ein *Spirillum* oder einen *Vibrio* anders als polar-begeißelt finden, auch wenn die Schraubenform des Körpers völlig zur Stäbchenform geworden ist. Ebenso ist die Begeißelung der lateral begeißelten Stäbchen immer seitlich, auch wenn das betreffende Stäbchen nur eine Geißel hat, z. B. das Coli-Stäbchen (Taf. V, 92a) oder das Typhus-Bakterium (Taf. IV, 77).

Dagegen kommen bei dem vielgestaltigen *Proteus* Uebergänge in der Geißelanordnung, an Stäbchen aus Knopfkolonien vor. In diesen Knöpfen zeigen sich neben unbegeißelten auch ganz eindeutig polar begeißelte Stäbchen (Taf. III, 56, 57, 59), in Fig. 58 sogar solche mit kleinen Geißelbüscheln.

Ueberimpft man diese Knöpfe auf frischen Agar, so werden diese Formen sehr bald von den peritrichen normal begeißelten überwuchert.

Weniger konstant ist die Begeißelung in bezug darauf, ob ein Pol oder beide begeißelt sind. Auch bei fast ausschließlich unipolaren Arten, z. B. bei *Vibrio cholerae* und *Pyocyaneus* kommen bipolar begeißelte Individuen, schon vor Beginn einer Teilungsfurche vor (Taf. VII, 138 rechts), während bei vorwiegend bipolar begeißelten Spirillen, z. B. *Spirillum volutans*, unipolar begeißelte keine Seltenheit sind.

Ausschließlich bipolar begeißelte Arten scheint es überhaupt nicht zu geben, sondern das Auftreten der Begeißelung an beiden Polen ist nur der Ausdruck der bevorstehenden Teilung, die bei den einen (nämlich den Vibrionen) rasch, bei den anderen (nämlich den Spirillen) langsam verläuft.

Das Basalkörnchen.

Fast in jedem Geißelpräparat, besonders häufig bei *Spirillum volutans*, findet man an einzelnen abgeworfenen oder abgerissenen Geißeln am basalen Ende ein stärker gefärbtes Körnchen. Bei den Spirillen ist es manchmal ein größeres Klümpchen von unregelmäßiger Gestalt. Da durch die Geißelfärbung meistens der ganze Bakterienkörper, einschließlich der Membran, voll ausgefärbt wird, so kann man durch die nunmehr undurchsichtige Hülle die Geißeln bis zu ihrer Ansatzstelle nicht verfolgen. Man kann also nicht wissen, ob die Geißel in einem Körnchen endet oder nicht.

Zettnow (35) hat durch schwache Beizung das Ektoplasma so zart gefärbt, daß man einen gewissen Einblick ins Plasma gewinnen konnte. Indessen hat er damit ein stärker färbbares Korn an der Geißelbasis nie gefunden und vermutet deshalb den Ursprung der Geißel im Ektoplasma.

Kolkwitz (17) bildet seine riesigen Chromatien *Okenii* ohne solche Körnchen ab.

Fuhrmann (8) zeichnet alle seine Spirillen mit einer Geißel, die durch die Membran hindurch geht und in einem Basalkörnchen endet. Er bringt dieses Körnchen mit dem Blepharoblast der Protozoen in Verbindung. Reichert (29) vermutete dasselbe, als er solche Körnchen im Dunkelfeld rotieren sah.

Ich selbst habe an schwächer gefärbten Stäbchen des *Pyocyaneus* und beim *Vibrio Metschnikoff* öfters kleine stärker gefärbte Einschlüsse in Kugel- und Stäbchenform gefunden, ohne sie aber in unmittelbare Verbindung mit den Geißeln bringen zu können. Bei *Spirillum volutans* nach Giemsa gefärbt sah ich an den Polen stärker gefärbte Plasmabezirke, aber niemals eine Differenzierung in Körnchen.

Dagegen fand ich an einem schwach gebeizten Typhus-Stäbchen (Textfigur 10) an einer Geißelbasis ein deutlich schwärzer gefärbtes Granulum, daß auch im Photogramm, Taf. IV, 72, noch als Vorwölbung zu erkennen ist und auch bei dem *Pyocyaneus*-Stäbchen auf Taf. VII, 132 und 139 rechts sieht man deutlich, daß die Geißelbasis, die beim Antrocknen etwas vom Körperpol abgetrennt ist, ein stärker gefärbtes Klümpchen zeigt.



Fig. 10.

Von abgeworfenen Geißeln zeigen diejenigen des *Vibrio Elvers* in 117, des *Vibrio cholerae* in 127 und des *Spirillum volutans* auf Taf. VI in 110 und 111 die Klümpchen besonders schön.

Ob es sich hierbei um ein Analogon zum Basalkorn der Protozoengeißel bzw. der Wimper von Epithelzellen handelt, ist aus diesen Befunden noch nicht zu schließen. Die unregelmäßige Form der Gebilde bei den abgeworfenen Spirillengeißeln und ihre erhebliche Größe lassen eher darauf schließen, daß es sich um größere Teile von Ekto- und Entoplasma handelt, die bei gewaltsamer Loslösung vom Spirillenkörper an der Geißel haften geblieben sind.

Das Endknöpfchen

ist ein am freien Ende der Geißel sich stärker färbendes Gebilde, das häufig bei den Vibrionen vorkommt. Es ist dicker als die Geißel und auch lichtbrechender. Deshalb ist es im Dunkelfeld besonders gut zu sehen, selbst an solchen Individuen, bei denen man die Geißel noch nicht sieht, z. B. bei manchen Exemplaren des *Vibrio Metschnikoff*. Man sieht dann nur den Körper und in stets gleichbleibender Entfernung das Endknöpfchen alle Bewegungen des ersteren begleitend (Textfig. 11). Man sieht die Knöpfchen stets am äußersten Ende der Geißel, dem sie genau zentral aufsitzen. Sie kommen an ganz langen und ganz kurzen Geißeln vor, scheinen also mit den Geißeln zu entstehen. Bei *Vibrio cholerae* sah ich auch schon zwei Knöpfchen hintereinander auf einer Geißel sitzen.

Fig. 11. *Vibrio* mit einem Knöpfchen am Ende der Geißel.

Die Zahl der Geißeln.

Nichts kann wohl die Schwierigkeit, die Zahl der Geißeln zur Systematik oder Diagnostik zu verwerten, besser illustrieren, als ein Vergleich des tausendfüßigen *Proteus* in Taf. II, Fig. 34 mit dem kokkenähnlich kurzen Stäbchen daneben in Fig. 38. Beide von demselben Stamm, beide auf dieselbe Weise kultiviert, aber zu verschiedenen Zeiten präpariert, das lange Individuum auf der Höhe der Entwicklung, als Produkt günstigster Ernährung riesenlang mit hunderten von Geißeln, das Kurzstäbchen 3 Tage später, nachdem der Lebensraum erheblich eingeschränkt ist. Darum bei ihm geringer Körperrumfang und nur eine Geißel.

Wenn wir nun auch nicht ein langes Stäbchen mit einem kurzen wegen des Größenunterschiedes in bezug auf seine Geißelzahl vergleichen dürfen, so ergeben sich aber auch zwischen gleichgroßen und gleichartigen Individuen immerhin noch außerordentliche Unterschiede, wie Fig. 45 auf Taf. III zeigt. Hier sieht man in einem Gesichtsfeld fast gleichgroße, aber ganz verschieden stark begeißelte Kurzstäbchen, die ein und derselben Kultur und ein und derselben Aufschwemmung entstammen.

Diese außerordentlichen **individuell bedingten Unterschiede in der Zahl der Geißeln** finden wir nicht nur bei *Proteus*, sondern auch

in allen anderen mehrgeißeligen Kulturen, mag es sich nun um Typhus, Paratyphus, Coli, *Spirillum parvum*, *faecalis alcaligenes* oder *Spirillum volutans* handeln. Aus diesem Grunde sind die Geißelbilder 45 auf Taf. III (*Proteus*) und 91c (*Paratyphus B*), 94b (*Faecalis alcaligenes* und 95d (*Spirillum parvum*) auf Taf. V wiedergegeben worden, auf denen in einem Gesichtsfeld neben unbegeißelten, neben ein- und zweigeißeligen auch Individuen mit vielen Geißeln anzutreffen sind.

Um dem Einwand zu begegnen, die Geißeln wären an den wenig begeißelten Stäbchen abgerissen, sei darauf hingewiesen, daß die Geißeln gewiß abreißen können, aber nicht immer müssen, daß Präparaten mit vielen abgerissenen Geißeln auch solche gegenüberstehen, wo die Zahl der abgerissenen Geißeln außerordentlich gering ist, wo man auch an den Rändern, an denen erfahrungsgemäß die meisten abgerissenen Geißeln angeschwemmt werden, keine abgerissenen Geißeln findet. Solche Präparate sind die Typhuspräparate, aus denen hier eine große Reihe von Bildern entnommen ist (Taf. IV, 60—85).

Ferner kann das Abreißen der Geißeln bei solchen Bildern ausgeschlossen werden, wo mehrere Stäbchen dieselbe Anzahl von Geißeln haben, z. B. bei den 5 Coli-Stäbchen in Taf. V, 92b, die alle nur je eine Geißel haben. Denn hätten tatsächlich die 5 Stäbchen mehr Geißeln gehabt, z. B. je 4, so wäre es doch merkwürdig, wenn bei 5 Stäbchen von den abgerissenen Geißeln immer nur je eine übrig geblieben wäre. Daß aber auch der Coli-Bazillus mehr Geißeln haben kann, zeigt Fig. 92c sehr schön und zwar stammt das viergeißelige Stäbchen aus demselben Präparat.

Auch die beiden nebeneinander liegenden Coli-Stäbchen in 92d, von denen jedes je 2 verflochtene Geißeln besitzt, sprechen gegen das Abreißen anderer Geißeln; ebenso das Typhuspaar in 64 unten mit je einer Geißel; ebenso das Typhusdoppelstäbchen mit je einer gleich langen Geißel im selben Bilde oben; auch die Doppelstäbchen in 61, 65, 66 oben und 67. Hier, wo auf jeder Seite je eine Geißel gut erhalten ist, fragt man sich unwillkürlich, warum beim Abreißen der ev. andern Geißeln, gerade diese beiden Geißeln erhalten geblieben sind.

Das Abreißen der Geißeln kann auch dann ausgeschlossen werden, wenn es sich um häufig wiederkehrende Bilder handelt, die sich zudem durch eine typische Anordnung der Geißeln auszeichnen.

So finden wir das Bild des Stäbchens mit nur einer lateral entspringenden Geißel beim Typhus ebenso wie beim Coli (vgl. Taf. IV, 77 mit Taf. V, 92a), nur nicht so oft als bei diesem. Wir sehen auch in Fig. 76, Taf. IV mit den gut verteilt liegenden 4 Geißeln deutlich, wie durch Abschnürung ein solches Stäbchen mit nur einer Geißel entsteht. Wir sehen aber auch, wie die andere Hälfte des Stäbchens mit 3 Geißeln der Vorgänger zu den Figg. 69, 70, 71 und 72, sämtlich 3geißelig, ist.

Andere Stäbchen zeigen bei gutgelungener Präparation der Geißeln eine solche Symmetrie in der Verteilung, z. B. 73 und 74 mit vier, Fig. 80 mit sechs Geißeln, daß es einem schwer fällt, sich andere Geißeln hinzuzudenken.

Jedenfalls sehen wir aus den Bildern auf Taf. IV, daß der Typhusbazillus, entgegen den bisherigen Anschauungen nicht immer rings um den ganzen Körper begeißelt ist, wie in Fig. 86 und 87, sondern daß er auch bedeutend weniger Geißeln, manchmal sogar nur eine zeigen kann. Diese Geißeln können gruppenweise symmetrisch oder unsymmetrisch angeordnet sein, jedenfalls bleiben zahlreiche Stellen des Bakterienkörpers frei von Geißeln (Taf. V, 88, Taf. IV, 73 und 74). Dieselben Verhältnisse wie beim Typhus finden wir beim Paratyphus, wie Fig. 91a mit wenig begeißelten gegenüber 91b mit viel begeißelten Stäbchen zeigt.

Wir sehen hieraus, daß die Zahl der Geißeln bei den peritrich begeißelten Bakterien an den einzelnen Individuen schwankt, daß man eine bestimmte Summe als Unterscheidungsmerkmal für die einzelnen Arten nicht angeben kann, eine Anschauung, die auch Heim (15) vertritt.

Dagegen können wir einzelne Arten im allgemeinen als „üppig“ begeißelt bezeichnen und hierher würde *Proteus* und nach Votellers (30) Abbildungen auch die Bazillen des Rauschbrands, malignen Oedems und der *Tetanusbazillus* gehören.

„Gut“ begeißelt ist der Typhus- und Paratyphus B.-Bacillus, d. h. er hat mehrere Geißeln an jeder Seite.

„Wenig“ begeißelt (d. h. häufig nur eine Geißel je Stäbchen) ist *Bakterium coli*.

Bei den lophotrich begeißelten finden sich ähnliche Verhältnisse.

„Ueppig“ begeißelt sind die großen Spirillen, wie z. B. *Ochromatium Okenii* (Kolkwitz (17)), *Spirillum volutans* (Taf. VI) und andere. In Fig. 107 und 111 sind die einzelnen Geißeln so gut erhalten und liegen so günstig entfaltet, daß jede einzelne ausgezählt werden konnte. Es sind in 107 neunzehn, in 111 sechzehn Geißelfäden.

„Gut“ aber nicht so üppig ist *Bakterium faecalis alcaligenes* und *Spirillum parvum* begeißelt (Taf. V, 94a—d bzw. 95—96).

Mehr Gleichmäßigkeit in der Zahl der Geißeln finden wir bei den Vibrionen und polar begeißelten Stäbchen.

Vibrio Elvers (Taf. VII, 112—119) hat zu 50 Proz. nur eine Geißel, 2 Geißeln sind häufig, 3 seltener. Mehr als 3 Geißeln konnten bisher noch niemals festgestellt werden.

Vibrio cholerae (120—127) ist vorwiegend monotrich. Doch zeigen die Fig. 123—126 eindeutig, daß auch bei ihm 2 Geißeln vorkommen. Namentlich die Fig. 126 zeigt ganz klar, daß es sich nicht um die abgerissene Geißel eines anderen Exemplars handelt.

Dieser Befund ist wichtig, weil Kollé (18) auf Grund seiner Untersuchungen mit Gotschlich bei Cholera kulturen, die mittels Immunitätsreaktion geprüft waren, immer nur eine Geißel gefunden hat, was ihn veranlaßte, die Einzahl der Geißel als ein sicheres Kennzeichen für den Choleraerreger anzusehen und die Echtheit solcher Stämme, bei denen Nicolle und Morax (28), Gruber (12), Kluczenko und Kamen (16) mehrere Geißeln gefunden haben, in Zweifel zu ziehen.

Der von mir benutzte Stamm ist der Stamm 7 (Indien) aus dem R. G. A. und seine Echtheit dürfte kaum zu bezweifeln sein.

Ich betrachte die Mehrgeißelichkeit beim *Vibrio cholerae* auch nur für eine Ausnahmeerscheinung, aber gleichzeitig als einen Beweis dafür, daß es bei der Variabilität der Bakterien absolute Daten in der Zahl der Geißeln ebenso wenig gibt, wie in der Größe und Form der Bakterien selbst.

Auch der *Pyocyaneus* hat zwar vorwiegend nur 1, und zwar eine äußerst dünne Geißel, doch zeigen die Bilder auf Taf. VII, 132—135, auch hier eindeutig, daß zweigeißelige Individuen vorkommen.

Die Form der Bakteriengeißeln in der Ruhe und ihre Stellung in der Bewegung als Mittel zur Unterscheidung einzelner Arten.

Die Geißeln lassen sich nicht nur nach der Ursprungsstelle, ob lateral oder polar entspringend, klassifizieren, sondern auch, da alle Geißeln schraubenförmig gewunden sind, nach der Form der Windungen. Man kann zwischen enggewundenen und weitgeschweiften Geißeln unterscheiden (Textfig. 12 u. 13).

Die enggewundenen sind auch immer die vielgewundenen, während die weitgeschweiften häufig nur eine flache Windung haben. Die enggewundenen erinnern lebhaft an Spirochäten, und zwar kommt der steilgewinkelte Pallidatyp häufig bei den polarbegeißelten, der flachergewinkelte Dentiumtyp mehr bei

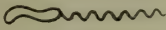


Fig. 12.

Fig. 12. Die viel- und enggewundene Vibriogeißel.



Fig. 13.

Fig. 13. Die wenig- und weitgeschweifte Spirillengeißel.

den lateral begeißelten Bakterien vor¹⁾. Wie groß die Ähnlichkeit freier Geißelzöpfe mit Spirochäten ist, zeigt Taf. I, Fig. 20 u. 20 a. In der Bewegung ist die Form der Geißeln gestreckter als in der Ruhe. Nach Aufhören der Bewegung schnurren sie meist in eine ganz bestimmte Ruhelage zurück.

Die weitgeschweiften treten fast stets in Form von Büscheln auf.

Die viel- und enggewundenen Geißeln finden wir immer bei den lateral begeißelten Bakterien, z. B. *Proteus*, *Typhus*, *Coli* usw.

Weitgeschweifte laterale Geißeln gibt es nicht. Dagegen kommen an den Polen enggewundene und weitgeschweifte Geißeln vor und geben dann ein sicheres Merkmal für die betreffende Art²⁾.

Denn niemals kommen bei einer Art 2 verschiedene Typen vor, d. h. bei einer Art, z. B. den Spirillen, kommen immer nur weitgeschweifte und bei der anderen Art, z. B. den Vibrionen, immer nur enggewundene Geißeln vor. Man kann aus der Form der Geißeln viel genauer auf die Zugehörigkeit zu einer Art schließen als aus der Form des Körpers, d. h. ein Spirillum kann ganz stäbchenhaft oder kugelig sein und braucht in keiner Weise halbe oder ganze Schraubenwindungen des Körpers zu zeigen, aber seine Geißeln sind stets weitgeschweift, nie eng gewunden.

Dasselbe gilt für die Vibrionen. Eine Reinkultur von *Vibrio Metschnikoff* zeigt in den seltensten Fällen reine Schraubenformen, sondern viel häufiger Komma-, Stäbchen- und Kugelformen aller Größen, aber immer zeigt die enggewundene polare Geißel, daß es sich um Individuen derselben Art, nämlich Vibrionen, handelt.

Wenn Gins und Fortner (9) den *faecalis alcaligenes*, ein ausgesprochenes Stäbchen, bloß deshalb in die Klasse der Spirillen einreihen, weil er polare Geißelbüschel hat, so scheint mir das zu weitgehend, solange wir unter Spirillen vorwiegend schraubig gewundene Organismen verstehen. Mit demselben Rechte hätte Zettnow (34) seinen *Bazillus flagellotortus*, der auch polare Geißelbüschel trägt, bei den Spirillen einreihen können. Auf keinen Fall darf man ihn aber in die Klasse der Vibrionen einreihen, wie dies Lehmann und Neumann, II. Bd., S. 548 getan haben.

Eine Mittelstellung zwischen enggewundener und weitgeschweifter Begeißelung nehmen die *Seimonaden* ein. Diese eigenartigen Organismen, die immer nur auf der Hohlseite begeißelt sind, und zwar haben sie nach Boscamp (1) Geißelbüschel, zeigen Uebergänge zwischen weitgeschweifter und enggewundener Form.

Auch physiologisch kann man die Geißeln durch die Art ihrer Stellung zum Körper während der Bewegung von einander trennen.

1) Im gefärbten Geißelpräparat kommt die steile Winkelung nur ausnahmsweise so wie in vivo zur Darstellung. In den meisten Fällen werden die Windungen flacher.

2) Die Zahl der Windungen hat Loeffler (23) schon zur Unterscheidung der Spirillen und Vibrionen herangezogen. Nach ihm haben die Spirillen meist nur eine, die Vibrionen mehrere wellige Biegungen.

Die einen, es sind stets polar entspringende enggewundene, werden immer „starr“ in einer Richtung gehalten, ganz gleich, ob die Fahrt vorwärts oder rückwärts geht (Textfig. 14).

Hierher gehören die Vibrionen und der *Pyocyaneus*.



Fig. 14. Stellung der „starren“ Geißel bei der Vor- und Rückwärtsbewegung.

Die anderen Geißeln müssen, wenn die Fahrt rückwärts geht, zurückgeschlagen werden, teils, weil sie, wie bei den Spirillen nicht starr genug sind, um vor dem Körper rotierend ihre Schraubenform zu behalten — der Druck des Mediums ist für ihr elastisches Gefüge zu groß —, teils weil ihre Lage seitlich vom Bazillenkörper, (wie bei *Proteus*) der Bewegung in entgegengesetzter Richtung zuviel Widerstand bieten würde.

Bei den lateral begeißelten, z. B. bei *Proteus*, geht diesem Umschlagen meist ein Senkrechtstellen der Geißeln zum Körper voraus, wodurch die Vorwärtsrichtung augenblicklich gebremst wird. Dann verharren die Geißeln einige Zeit in dieser Lage, bis ein neuer Antrieb nach entgegengesetzter Richtung erfolgt, der die Geißeln nunmehr vollständig umschlägt (Textfigur 15a—c).

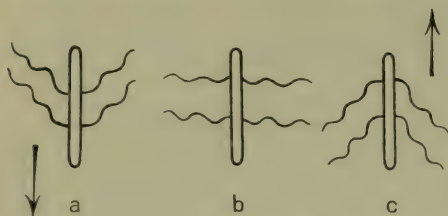


Fig. 15a—c. Stellung der „elastischen“ lateralen Bakteriengeißel bei der Vor- und Rückwärtsbewegung.

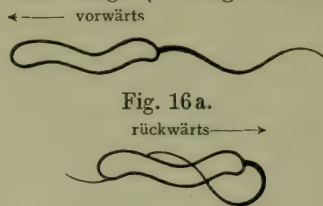


Fig. 16a.

rückwärts

Fig. 16b.

Fig. 16a und b. Stellung der „elastischen“ Spirillengeißel bei der Vor- und Rückwärtsbewegung.

Elegant er geht das Umschlagen der Geißeln bei den Spirillen und ähnlichen Organismen vor sich. Hier wird die Geißel in der Vorwärtsbewegung stets am hinteren Pol getragen, schnappt im Moment der Richtungsänderung sofort um (Textfig. 16a u. b) und rotiert nun — wie wir aus den sorgfältigen Untersuchungen Metzners (24) wissen — um den Leib geschlungen oder daneben geführt weiter, dieselbe Arbeit wie bisher nur nach der entgegengesetzten Richtung leistend.

Alle Geißeln können außer den rotierenden Bewegungen um ihre Längsachse auch kreisende Bewegungen um die Ansatzstelle sowohl in der Horizontal-, wie in der Vertikalebene ausführen.

So sah ich ruhende Typhusbazillen und Spirillen vol. uhrzeigermäßig ihre Geißeln in der Horizontalebene um 360° drehen und Vibrionen (Elvers), in der Vertikalebene mit den Geißeln Rad schlagen.



Fig. 17. Die Geißel als Steuer bei den Vibrionen.

Bei den Vibrionen kann man außerdem, wenn die schnelle Beweglichkeit im Präparat nachzulassen beginnt, deutlich sehen, daß die Geißel als Steuer benutzt wird, indem sie nicht mehr genau in Verlängerung der Körperaxe, sondern, wie bei einem Boot das Steuer schräg zu ihr gestellt wird (Textfig. 17). Ein solches Stäbchen schwimmt dann im Kreise.

Den Spirillen ist dies nach Metzners (24) Untersuchungen unmöglich, weil ihre Geißeln zu „elastisch“ sind.

Wir sehen also, daß das „starre“ System der Begeißelung einen Fortschritt gegenüber dem unstarren bedeutet, daß also die Träger einer solchen Geißel

in der Entwicklungsreihe höher stehen dürften und wahrscheinlich den Uebergang zu den Flagellaten bilden.

Noch eine Beobachtung im Bewegungsmechanismus der Bakterien ist auffallend und konnte an sehr steil gewundenen Choleravibrionen wie an großen gekrümmten Proteus- und Typhusfäden gut verfolgt werden:

Der Körper dreht sich nicht, wie er es sonst meist tut, einmal vollständig um seine Längsachse, sondern schaukelt immer nur in halben Schraubengängen von rechts nach links und von links nach rechts wieder zurück. Bei Proteus-Bakterien mit seitlich herausgestellten Geißeln stehen diese dann immer einen Augenblick fast senkrecht, ehe sie wieder in die wagerechte Lage zurückpendeln.

Ich möchte diese Bewegung als Pendelbewegung der Bakterien im Gegensatz zu der Schrauben- und Gleitbewegung bezeichnen.

Die Verkoppelung mehrerer Individuen.

Ueber die Verkoppelung mehrerer Individuen durch Verzopfung ihrer Geißeln als Ausdruck einer Arbeitsgemeinschaft in viskösen Medien ist bereits gesprochen worden. Ein gutes Bild davon ist in Taf. II, 28 zu finden.

In vielen Fällen ist die Verzopfung sicherlich nur eine zufällige und ungewollte und wird, wenn die betreffenden Individuen genügend Bewegungskraft haben, leicht gelöst. Solche Lösungen nach vorhergehender unfreiwilliger Verzopfung wurden oft beobachtet (Textfig. 18a noch verkoppelt, 18b wieder gelöst).

Wenn aber unter den ungünstigen Lebensbedingungen des Präparates die Beweglichkeit der Individuen allmählich nachläßt, sind diese aus eigener Kraft nicht mehr imstande, die Verkettung zu lösen und es entstehen Bilder, wie in Nr. 13 auf Taf. I.

Ganz anders aber sind die Verkoppelungen, die beim *Pyrocyanus* fast in jedem Lebendpräparat nach einiger Zeit zu beobachten sind. Irgend zwei Individuen haben sich wie in Textfig. 18a verkoppelt und kommen nicht mehr auseinander, trotz voller Bewegungsfähigkeit. Man sieht dann 2 Individuen durch ein unsichtbares Band — die Geißel — verbunden hin und her fahren. Manchmal scheint es, als wollten sie voneinander loskommen, denn die Stäbchen machen auf der Stelle schüttelnde und reißende Bewegungen, manchmal sieht es aus, als wollten sie sich durch heftiges Rotieren nur noch fester verschlingen¹⁾. Jedenfalls kommen sie nicht voneinander los. Als dann kommt ein 3. Stäbchen und verankert sich an der Geißel, heftig um diese herumwirbelnd. Es kommen noch mehr Stäbchen, selten mehr als 5—6, die sich alle an der Geißel fest machen (Textfig. 19). Trotz der Last von 5—6 Stäbchen sind die beiden ersten in der Lage hin und her zu schwimmen.

Es kommen aber auch Verzopfungen neben einander vor, wie Taf. VII, Fig. 139—141 zeigt, wobei gleichfalls die Geißeln verzopft werden, und zwar können sich 2, 3, 4, 5 und noch mehr Individuen zu einem ganzen Haufen ver-

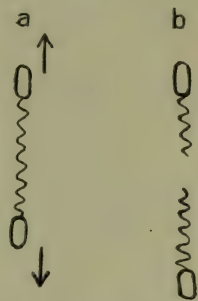


Fig. 18. a) 2 Stäbchen, die sich mit der Geißel verfangen haben und solange weiter schwimmen, bis b) die Verzopfung gelöst ist.



Fig. 19. Verkoppelung mehrerer *Pyrocyanus*-Stäbchen.

1) Dieser Vorgang wurde auch im Film festgehalten und auf der Tagung der Deutschen Mikrobiologischen Gesellschaft in Bern 1928 gezeigt.

klumpen. Aus diesen ragen dann besonders starke Geißelzöpfe heraus, die man auch im Dunkelfeld gut sehen kann.

Diese Haufenbildung habe ich bisher bei jeder beweglichen Bakterienart beobachtet, besonders eindrucksvoll ist sie dann, wenn ein solcher Haufen schwimmt und die typischen Bewegungsarten der Einzelindividuen vollführt, also schraubenförmige Drehung um die Längsachse, Schaukelbewegung oder Gleitbewegung. Loehnis (22) vermutet, daß solche Haufen verschmelzen und eine neue Einheit bilden, die er Symplasma nennt.

Es kommen aber auch Verbindungen von Bakterien ohne Zuhilfenahme der Geißeln vor. Diese Verbindungen können außerordentlich fest sein und scheinen durch Ansaugen zustande zu kommen. Sie erfolgen entweder

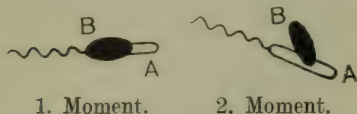


Fig. 20. A = ein *Vibrio Metchnikoff*, an den sich ein anderer B fest angeheftet hat. Bei schnellen Wendungen wird B mit dem Hinterende seitlich herausgeschleudert.

einer scharfen Wendung der oben befindliche *Vibrio* durch die Zentrifugalkraft seitlich herausgeschleudert, blieb aber mit seinem Pol in dem Stäbchen verankert und, als das lange Stäbchen die grade Richtung wieder aufnahm, schnappte der *Vibrio* in seine alte Lage zurück. Dieses Spiel wiederholte sich an jeder scharfen Kurve und zeigte, wie innig die Verbindung der beiden Individuen war (Textfig. 20).

Zusammenfassung.

Die Sichtbarkeit der Bakteriengeißeln im Dunkelfeld ist abhängig von ihrer Dicke. — Der Brechungsindex des Mediums spielt dabei keine Rolle. Bei einer gewissen Dicke — sie liegt etwa bei $0,05 \mu$ — können die Geißeln in jedem Medium gesehen werden. — Unterhalb dieser Dicke sind die Geißeln für gewöhnlich auch im Dunkelfeld nicht mehr erkennbar. Der Satz Einthovens, daß auch der dünnste Faden im Ultramikroskop sichtbar zu machen sei, bedarf deshalb für die feinsten Bakteriengeißeln einer Einschränkung. — Im allgemeinen ist die Geißel der monotrichen Bakterien stärker als die der polytrichen. — Deshalb wird die erstere im Dunkelfeld gesehen, die letztere nicht. — In der Geißeldicke der einzelnen Arten bestehen Unterschiede, diese Unterschiede sind sehr konstant, z. B. die Geißel des *Vibrio Elvers* ist immer dicker, als die des *Bac. pyocyaneus*. — Deshalb ist die erstere im Dunkelfeld leicht, die letztere fast nie zu sehen. — Die erstere hat etwa einen Durchmesser von $0,1 \mu$, die letztere von ca. $0,025 \mu$. — $0,025 \mu$ ist auch der Durchmesser der einzelnen Geißel bei den peri- und lophotrichen. — Um bei ihnen Geißeln sehen zu können, müssen mehrere verzopft sein. — Die Verzopfung der Geißeln — auch in flüssigen Medien — ist bei den lophotrichen Spirillen die Regel; bei den peritrichen Bakterien erfolgt sie erst in viskösen Medien. — Deshalb muß man peritriche Bakterien in viskösen Medien untersuchen, wenn man bei ihnen Geißeln, d. h. Geißelzöpfe

sehen will. — Am besten hat sich für diese Zwecke „Gummibrühe“ (mit 5—10proz. Gummizusatz) bewährt. — In wässriger 5proz. Gummilösung kann man die Verzopfung auch im Ausstrich mit Hilfe einer Geißelfärbung zur Darstellung bringen. — Bakterien, die sich nicht sofort verzopfen, züchtet man in stark viskösen Medien (z. B. in 7proz. Gelatine). — Die Verzopfung ist nichts zufälliges, sondern das Mittel für die Bakterien, um in viskösen Medien eine größere Kraft zu entwickeln. In stark viskösen Medien können sich sogar mehrere Individuen zusammenschließen und ihre Geißeln gemeinsam verzopfen („Arbeitsgemeinschaften“). — Es gibt starre und elastische Geißeln, je nachdem die Geißel dem Druck des Mediums bei der Umkehr der Bewegung standhält oder nachgibt. — Die Geißel der Vibrionen ist immer starr, die der Spirillen stets elastisch. — Man kann die Vibrionen und Spirillen auch nach der Form ihrer Geißeln unterscheiden. — Die Geißeln der ersteren haben „viel und eng gewundene“ Windungen, die der letzteren „wenig und weit geschweifte“. — Die Zahl der Geißeln ist nur bei den monotrichen konstant. Doch kommen auch hier Ausnahmen in Gestalt zweigeißeliger Individuen vor (*Cholera-vibrio*, *Pyocyaneus*). Bei den polytrichen schwankt die Zahl der Geißeln in großen Grenzen, je nach der Art, dem Entwicklungszustand und den Ernährungsbedingungen. — Auch ein geißellooses Stadium kann bei einzelnen Arten vorkommen.

Literaturverzeichnis.

- 1) Boscamp, Ueber Bau, Lebensweise u. system. Stellung von *Seimonas palpitans* (Simons). (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 88. 1922. S. 58—73). — 2) Braun u. Schaeffer, Zur Biologie der Fleckfieber-Proteus-Bazillen. Ein Beitrag z. Frage der Wirkungsweise der Desinfektionsmittel u. des Hungers auf die Bakterien. (Ztschr. f. Hyg. Bd. 89. 1919. S. 339). — 3) Buder, Zur Kenntnis des Thiospirillum jenense und seiner Reaktion auf Lichtreize, (Jahrb. f. wissensch. Bot. Bd. 56. 1915. S. 529—584, zit. n. Metzner). — 4) Einthoven, Ueber die Beobachtung und Abbildung dünner Fäden. (Pflügers Arch. f. Physiol. Bd. 191. 1921. S. 60 ff.). — 5) Enderlein, Bakterien-Cyclogenie. 1925. S. 120. — 6) Fischer, A. Untersuchungen über Bakterien. (Jahrb. f. wissensch. Bot. Bd. 27. 1895. S. 1—163). — 7) Frache, Les fouets set le mouvement des bactéries. (Dissertat. Nancy. 1926. p. 1—188.). — 8) Fuhrmann, Die Geißeln von Spirillum vol. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 25. 1910. S. 129—160). — 9) Gins u. Fortner, Beiträge zur Morphologie und Biologie der Diphtheriebazillen. (Ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 99. 1926. S. 257). — 10) Gotschlich, Handb. d. Hygien. Untersuchungsmethoden. Bd. 1. 1926. S. 362 u. 383. — 11) Ders., Handb. d. pathog. Mikroorganismen. 3. Aufl. Bd. 1. 1927. S. 81. — 12) Gruber, Ueber die bakteriolog. Diagnostik d. Cholera u. des Cholera-Vibrio. (Arch. f. Hyg. Bd. 20. 1894. S. 128). — 13) Hauser, Ueber Fäulnisbakterien. S. 885, zit. nach Heim. — 14) Heidenhain u. Werner, Ueber die Epithelien d. corpus epididymidis b. Menschen. (Ztschr. f. Anat. u. Entw.-Gesch. Abt. I. Bd. 72. 1924. S. 597). — 15) Heim, Lehrb. d. Bakteriologie. 6. u. 7. Aufl. 1922. S. 210 u. 213 ff. — 16) Kluszenko u. Kamen, Ztschr. f. Hyg. Bd. 16. 1894. S. 497. Taf. XIII. Photogr. 4. — 17) Kolkwitz, Ueber die Geißeln d. Schwefelbakterien. Chromatium Okenii (Ehrbg-Party). (Ber. d. deutsch. Bot. Ges. Bd. 48. 1927. S. 30—35). — 18) Kolle, Handb. d. pathog. Mikroorg. 3. Aufl. Bd. 4. 1927. S. 15. — 19) Kühnemann, Zur Identifizierung des Bac. faecalis alcaligenes. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 57. 1911. S. 469—471). — 20) Kuhn u. Sternberg, Die Agarfixierung v. Bakterien. (Ztschr. f. Mikroskopie. 1922.) — 21) Lehmann u. Neumann, Bakt. Diagnostik. 7. Aufl. Bd. 2. 1927. S. 9 u. 548. — 22) Loehnis, Zur Morphologie u. Biologie der Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 56. 1922. S. 529—544.). — 23) Loeffler, zit. nach Heim (15). S. 209. — 24) Metzner, Die Bewegung und Reizbeantwortung der bipolar beg. Spirillen. (Jahrb. f. wissensch. Bot. Bd. 59. H. 3. 1920. S. 347.) — 25) Neumann, Franz, Die Sichtbarmachung von Bakteriengeißeln am lebenden Objekt im Dunkelfeld. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 96. 1925. S. 250 u. ff.) — 26) Ders., Sind Proteus-Bakterien aus nichtschwärmenden auf Karbolagar gewachsenen Kolonien geißel- und bewegungslos? (Klin. Wochenschr. 1926. Jahrg. 5. Nr. 24.) — 27) Neumüller, Bemerkung zur Arbeit von Dr. Neumann: die Sichtbarm. usw. s. o. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig.

Bd. 102. 1927. S. 90—92). — 28) Nicolle u. Morax, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1893. p. 559, zit. nach Günther. Einführung in das Studium d. Bakt. 1895. 4. Aufl. S. 318. — 29) Reichert, Ueber die Sichtbarmachung der Geißeln und die Geißelbewegung der Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 51. 1909. S. 14—91). — 30) Voteller, Ueber die Differentialdiagn. der pathog. Anaeroben durch die Kultur auf Schrägagar und ihre Geißeln. (Ztschr. f. Hyg. Bd. 27. S. 480—505). — 31) Zettnow, Einige neue Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 77. H. 3. 1916. S. 207 ff). — 32) Ders., Färbung und Teilung der Spirochäten. (Ztschr. f. Hyg. Bd. 52. 1906. S. 489). — 33) Ders., Ueber Schleimgeißeln. (Ztschr. f. Hyg. Bd. 86. S. 25 ff). — 34) Ders., Ueber den Bau der Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 10. 1891. S. 694. Tafel I. 12—16). — 35) Ders., Kleine Beiträge zur Morphologie der Bakterien. (Ztschr. f. Hyg. Bd. 85. 1918. S. 18 ff). — 36) Zuelzer, M., Ueber Bakterium spirilloides n. sp. ein bisher unbek. Bakt. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 101. H. 1/3. 1927.)

Erklärung der Tafelabbildungen.

Sämtliche Aufnahmen sind mit der homogenen Oelimmersion 1/12a und periplanat. Okular 10 × (E. Leitz) bei 250 mm Balglänge gemacht. Die Vergrößerung ist also 1000fach. Sie wurde außerdem noch durch einen Objektmikrometer genau nachgemessen.

Die Dunkelfeldaufnahmen auf Tafel I sind sämtlich mit der Leitzschen Aufsatzkammera „Makam“, die sich für diese Zwecke ausgezeichnet bewährt hat, angefertigt.

Die Hellfeldaufnahmen sind mit einem gewöhnlichen Vertikal-Stativapparat gemacht.

Tafel I.

Fig. 1—19. **Proteus**-Bakterien (× 22) in verschiedenen Stadien des Wachstums und der Begeißelung, aufgeschwemmt in 5proz. Gummibrühe. Dunkelfeldaufnahmen¹⁾.

Fig. 1. Große Fadenform vom äußersten geschwärmten Rande einer Agarplattenkultur, 16 Std. nach der Beimpfung. Körper breit, Geißelzöpfe verhältnismäßig kurz.

Fig. 2 wie 1 gewonnen, etwas schlanker und mit längeren Geißeln, weil die Entwicklung weiter fortgeschritten.

Fig. 3. Langstäbchen auf dem Höhepunkt der Begeißelung, sehr starke Zöpfe.

Fig. 4. Zeigt die sekundäre Verzöpfung von Primärzöpfen an der Geißelbasis (auf der rechten Seite besser als auf der linken).

Fig. 4—16 aus drei Tage alter Kultur (Agarplatte vollkommen zugewachsen; auf der Platte noch lebhafte Bewegung). Zerfall in immer kleinere Stäbchen mit verschieden typisch gestellten Geißelzöpfen.

Fig. 17 u. 18. Riesengeißelzöpfe von einer Agarplatte, Cyanochintusgefärbung. Wie die enorme Breite eines solchen Gebildes durch Ineinanderschieben zweier Zöpfe entsteht, wird in Fig. 18 deutlich.

In Figur 17 ist der Prozeß des Ineinanderschiebens bereits beendet. Nur eine dünne Trennungslinie in der Mitte zeigt, daß der Zopf ursprünglich auch aus 2 Teilen bestand.

Fig. 19. Kugelknospen an einem *Proteus*-Stäbchen (vgl. auch Tafel II, 32).

Fig. 20 u. 20a. Abgeworfene Geißelzöpfe im Dunkelfeld, **Pseudospirochäten!**

Fig. 21. *Vibrio* Elvers mit polarer Begeißelung im Gegensatz zu dem scheinbar polar begeißelten *Proteus*-Stäbchen in 10—16. Geißel wesentlich dünner als Fig. 21a echte *Spirochäten* (*Spir. pallida*).

Fig. 22. Typhusstäbchen (Stamm Meinicke, Dresden) mit drei Geißelzöpfchen. (500fach).

Tafel II und III.

Noch **Proteus**-Bakterien. Geißelfärbung nach Zettnow.

Fig. 23—32, 36 u. 37 in 5proz. wässriger Gummi-Lösung zwecks Erhaltung der Zopfform aufgeschwemmt und darin gefärbt. Alle anderen Figuren bis 59 einschließlich stammen aus Präparaten, die in Leitungswasser aufgeschwemmt und gefärbt sind.

Tafel II.

Fig. 23—25. Stäbchen auf dem Höhepunkt der Begeißelung, Zopfform und Windungen vorzüglich erhalten.

In Fig. 24 hat das längere Stäbchen mehr, aber dünnere Geißelzöpfe, das kürzere weniger aber dickere. Das Präparat ist nach Peppler gebeizt und nach Zettnow versilbert.

Fig. 26—31. Äußerst kleine Stäbchen aus einer 4 Tage alten Kultur mit charakteristisch gestellten und gut erhaltenen Geißelzöpfen.

Fig. 32—36 sind nach Zettnow gebeizt und mit Giemsa 24 Std. gefärbt. Geißeln blau, Körper violett.

1) Mit Ausnahme von 17 und 18.

Fig. 37 ist nach Peppler gebeizt und gefärbt und bringt die allerfeinsten Windungen gut zur Darstellung.

Fig. 33. In Leitungswasser aufgeschwemmt, gut erhaltene Geißeln und Geißelzöpfe, obwohl aus 14 Tage alter Kultur stammend.

Fig. 34 u. 35. Fadenform auf dem Höhepunkt der Begeißelung. In 34 fast alle Geißeln entfaltet, in 35 Zöpfe andeutungsweise erhalten. Die Stellung der Geißeln vollkommen parallel zur Körperachse, ist diejenige bei schneller Rotationsbewegung. Vergl. dieselbe Stellung in 36.

Fig. 38—41 als Folge der Präparation in Wasser: Aufspaltung der Zöpfe, die in 26—31 bei Gummipräparation fest geschlossen bleiben. Die Entstehung der Zöpfe aus Geißeln zweier verschiedener Seiten ist gut erkennbar.

Fig. 42. Kugelform, stark begeißelt. Noch im Zusammenhang mit der Mutterzelle, von der noch ein Stäbchenrest zu sehen ist, das Gegenstück zu 32. Hier ist Abschnürung von der Mutterzelle schon erfolgt.

Tafel III.

Noch **Proteus**-Bakterien.

Fig. 43—45. Stufenweiser Zerfall in immer kürzere und schwächer begeißelte Formen.

Fig. 45 ist gut erkennbar, wie gleich große Individuen ganz verschieden stark begeißelt sein können. Man vergl. nur den üppigen Behang des untersten Stäbchens mit den zwei Geißeln des obersten.

Fig. 46—49. Material aus einer alten Knopfkolonie, 24 Std. nach Uebertragung auf frischen Agar. Kokkenähnliche Formen, die sich allmählich wieder zu plumpen Stäbchen strecken, alle noch spärlich oder gar nicht begeißelt.

Fig. 50—53. Material aus einer anderen Knopfkultur, 6—8 Std. nach Uebertragung auf frischen Agar. Die Stäbchen wachsen erst in die Breite (51) dann in die Länge (52 u. 53). Die Begeißelung ist zunächst spärlich (50 u. 51), sie nimmt in 52 u. 53 allmählich zu, ist aber nicht so üppig wie bei normal begeißelten in 43 u. 44.

Fig. 54. Auffallend dicke bei der Präparation gequollene (?) Anfangsform einer täglich frisch weitergezüchteten Kolonie. Im Präparat ist auch am oberen Pol genau in der Mitte eine Geißel erkennbar. Aus diesen dicken Kurzstäbchen entwickeln sich dann sehr rasch die Riesenfäden, wie in Tafel II, 34. Begeißelung sehr üppig.

Fig. 55. Altes *Proteus*-Stäbchen, frisch überimpft mit alten langen und kurzen neuen Geißeln.

Fig. 56—59. Knopfvariationen mit polarer Begeißelung. Man beachte die Büschelform in 57, hier auch zahlreiche kleinste und unbegeißelte Zwergformen¹⁾.

Tafel IV.

Fig. 60—85 nur **Typhus**-Stäbchen, verschieden stark begeißelt.

Fig. 60—67 ein- und zweigeißelige.

Fig. 68—72 dreigeißelige.

Fig. 73—76 viergeißelige.

Fig. 77. Stäbchen mit nur einer seitlich entspringenden Geißel, nach Abschnürung von einem mehrbegeißelten anderen Stäbchen, wie z. B. 76.

Fig. 78—81 zeigt, wie mehrere Geißeln von einer einzigen Stelle entspringen.

Fig. 79. Stäbchen in Teilung mit alten längeren Geißeln und 1 neu sprossenden.

Fig. 82—85 sehr lang und sehr fein begeißelte Individuen. Auch hier entspringen die Geißeln gruppenweise an eng begrenzten Stellen, große Teile des Körpers frei lassend.

Tafel V.

Fig. 86—90 noch **Typhus**.

Fig. 86—87 stark und wirklich peritrich begeißelt.

Fig. 88. Fadenform spärlich und unregelmäßig begeißelt. Man vergleiche hiermit den üppigbegeißelten *Proteus*-Faden auf Tafel II, 43. Auffallend sind die großen Plasmalücken.

Fig. 89. Gut erhaltene und verquollene Geißeln im selben Präparat und im selben Gesichtsfeld.

Fig. 90. Stäbchen mit gleichmäßig eingerollten Geißeln.

Fig. 91a—c. **Para-Typhus B.**

Fig. 91a wenig begeißelt.

Fig. 91b üppig begeißelt.

1) Da aus diesen Zwergformen (siehe auch Tafel II, 26—31) wieder Riesenfäden (34) entstehen und aus diesen Riesenfäden wieder Zwergformen und zwar in ganz bestimmter, genau verfolgbare Reihenfolge, so kann man bei *Proteus* wohl mit Recht von einem Kreislauf der Formen sprechen, wie ihn Enderlein (5) in seiner Bakterien-Cyklogenie vertritt.

Fig. 91c. Beispiel für individuell verschieden starke Begeißelung.

Fig. 92a—d. **Bakterium Coli**. Wenig begeißelt, meistens eingeißelig (92a u. b), selten stärker begeißelt als 92c. Die Masse der Kolonie ist meistens unbeweglich und unbegeißelt.

Fig. 93 kurze, dicke **Rauschbrand**-Form auf Zeißler-Platte nach 24 Std. Die ganze Kultur war unbeweglich.

Fig. 94a—d. **Bakterium Faecalis alealigenes**. Polständige Geißelbüschel meist bipolar, selten unipolar.

Fig. 95a—96. **Spirillum parvum**. Meist polare Büschel, häufig bipolar begeißelt. Geißeln in der Einzahl nicht selten (siehe 95d u. e).

Tafel VI.

Spirillum volutans.

Drei Tage alte Plattenkultur bei Ztp.

Fig. 97—99, 106—111 in Wasser gefärbt.

Fig. 100—102 Dunkelfeldaufnahmen.

Fig. 103—105 in 5proz. Gummi gefärbt.

Durch die Gummifärbung bleiben die Zöpfe wie im Dunkelfeld erhalten.

Bei der Wasserpräparation spalten sie sich ganz (107) oder teilweise (97) auf.

Die Formunterschiede der Körper in ein- und derselben Kultur sind erheblich. Neben kurzen, dicken Kugeln finden sich typische Schraubenformen, aber auch lange gestreckte Stäbchen.

In Fig. 108 u. 109 sieht man gut die Entwicklung der Geißeln. An dem unbegeißelten Pol beginnt ein neues, kurzes Büschel zu sprießen.

Fig. 110 u. 111 zeigen abgeworfene Geißelbüschel, mit einem Rest von Protoplasma. (Basalkorn?)

Tafel VII.

Fig. 112—119. **Vibrio Elvers**.

Fig. 112 nur eingeißelige.

Fig. 113 eine Kugelform, die durch Einrollung zustande gekommen ist, im Präparat sieht man deutlicher als im Photogramm ein ungefärbtes Loch im Zentrum.

Fig. 114 links ein zwei-, in 119 ein dreigeißeliges Individuum. Jede einzelne Geißel ist so dick, daß sie unverzopft im Dunkelfeld gesehen werden kann. Die ungleiche Länge der Geißeln kommt in 119 gut zum Ausdruck.

Fig. 117 ein abgeworfenes Geißelpaar mit einem gemeinsamen Basalkorn.

Fig. 118. Endknöpfchen, typisch für die Gattung *Vibrio*, siehe dasselbe in Fig. 125 bei *Cholera vibrio*.

Fig. 120—127. **Vibrio Cholerae**. Stamm 7 (Indien), aus dem Reichsgesundheitsamt.

Fig. 121—122. Typische Vibrionen mit nur einer Geißel.

Fig. 123—126. Selten aber doch vorkommende zweigeißelige Individuen.

Fig. 127, oben Protoplasma Klümpchen an freier Geißel.

Fig. 120. Zwergform?

Fig. 128a u. b. **Vibrio Elvers** und **Pyocyaneus** gemeinsam gefärbt zeigen einwandfrei die Dickenunterschiede der Geißeln und erklären hierdurch die gute Sichtbarkeit der Elvers-Geißeln im Dunkelfeld gegenüber der Unsichtbarkeit der *Pyocyaneus*-Geißeln.

Fig. 129a u. b. **Spirochaeta pallida**, Gehirnschnitt, nach Jahnke gefärbt.

Fig. 129c. **Micrococcus agilis** aus einem Henaufguß.

Fig. 130—141. **Bac. Pyocyaneus**.

Fig. 130. Normale Stäbchen mit einer Geißel.

Fig. 131. Auf Lithiumagar gezüchtete und dadurch vergrößerte Formen.

Fig. 132—135. Zweigeißelige Individuen.

Fig. 132 u. 139. Ein stärker gefärbtes Basalklümpchen in den beim Antrocknen vom Körper abgetrennten Geißeln.

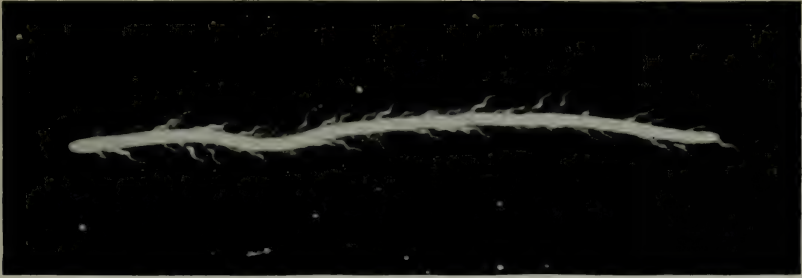
Fig. 136. Verkoppelte Individuen.

Fig. 137. Bipolarbegeißeltes Stäbchen mit Teilungsfurche.

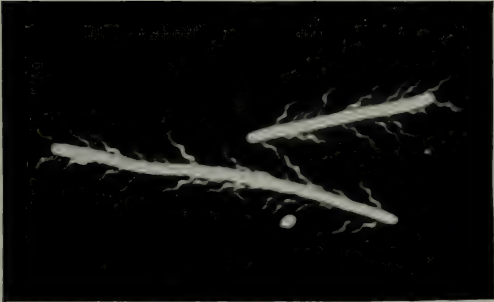
Fig. 138. Rechts: bipolarbegeißeltes Stäbchen ohne Teilungsfurche.

Fig. 139—141. Verkoppelte Individuen.

1



2



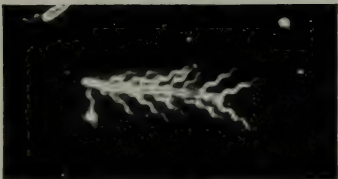
4



5



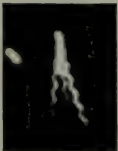
3



6



7



8



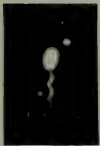
9



10



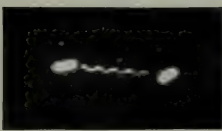
11



12



13



14



15



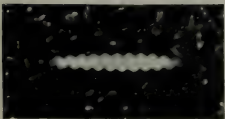
16



19



17



18



20



20a



21



22



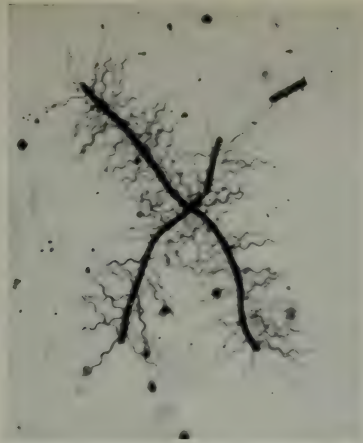
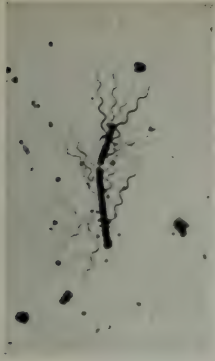
21 a



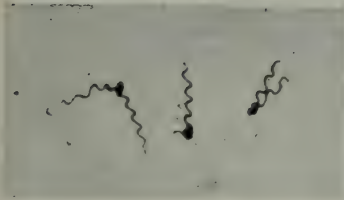
24

25

23



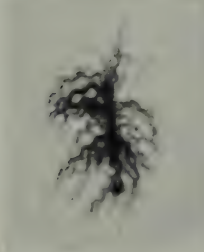
26



36



33



37



27



28



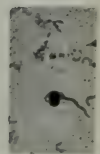
34



38



39



29



30



31



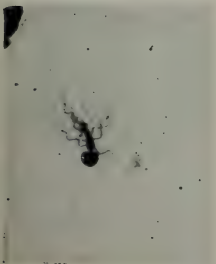
40



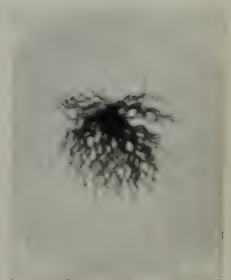
41



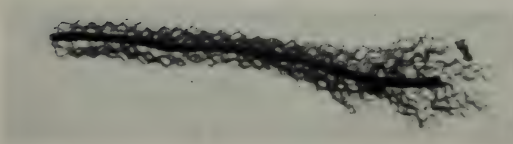
32



42



35



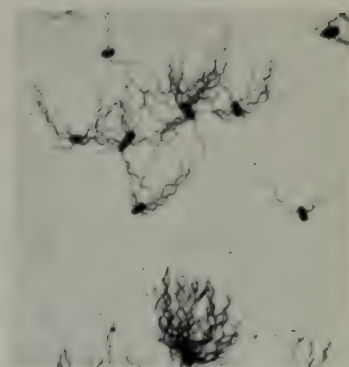
43



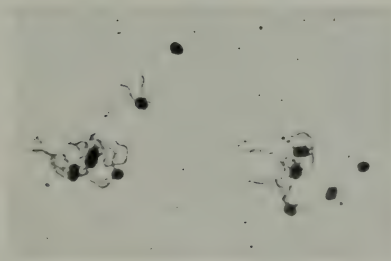
44



45



48



46



47



49



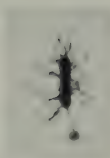
50



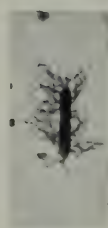
51



52



53



54



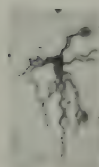
56



58



55



57

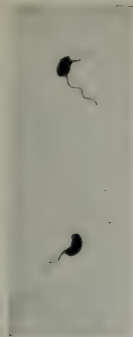


59



THE UNIVERSITY OF CHICAGO
LIBRARY

60



61



62



64



65



66



63



67



68



69



70



71



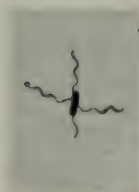
72



73



74



75



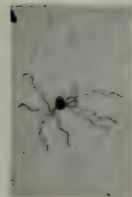
76



77



78



79



80



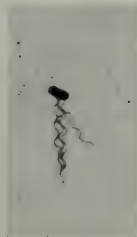
81



82



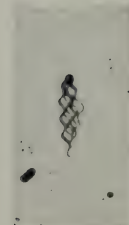
83



84



85

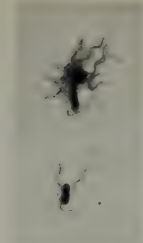
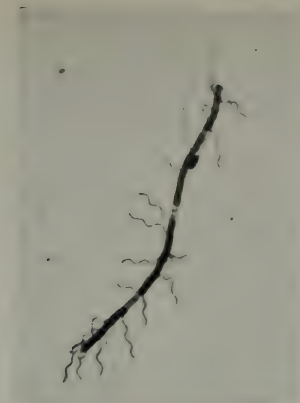
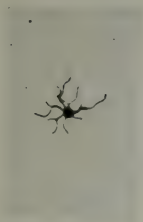


88

89

86

87



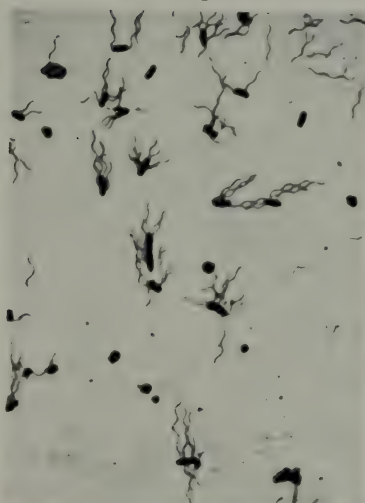
90



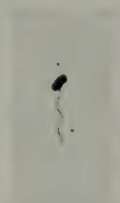
91 a



91 c



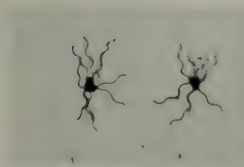
92 a



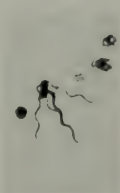
92 b



91 b



92 c



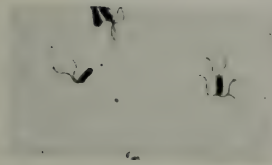
92 d



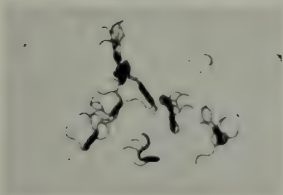
93



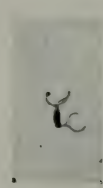
94 a



94 b



94 c



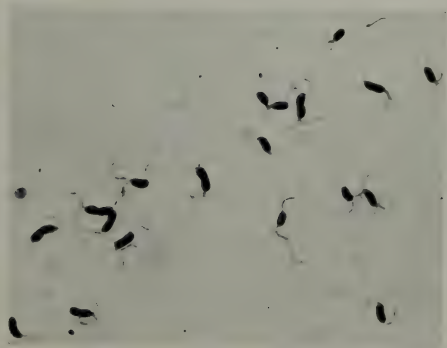
94 d



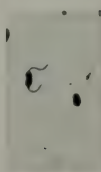
95 a



95 d



95 e



95 f



95 c



95 b



96



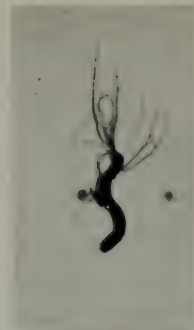
97



98



99



100



101



102



103



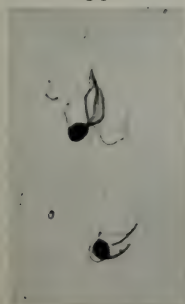
104



105



106



107



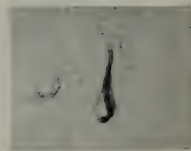
108



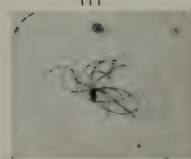
109

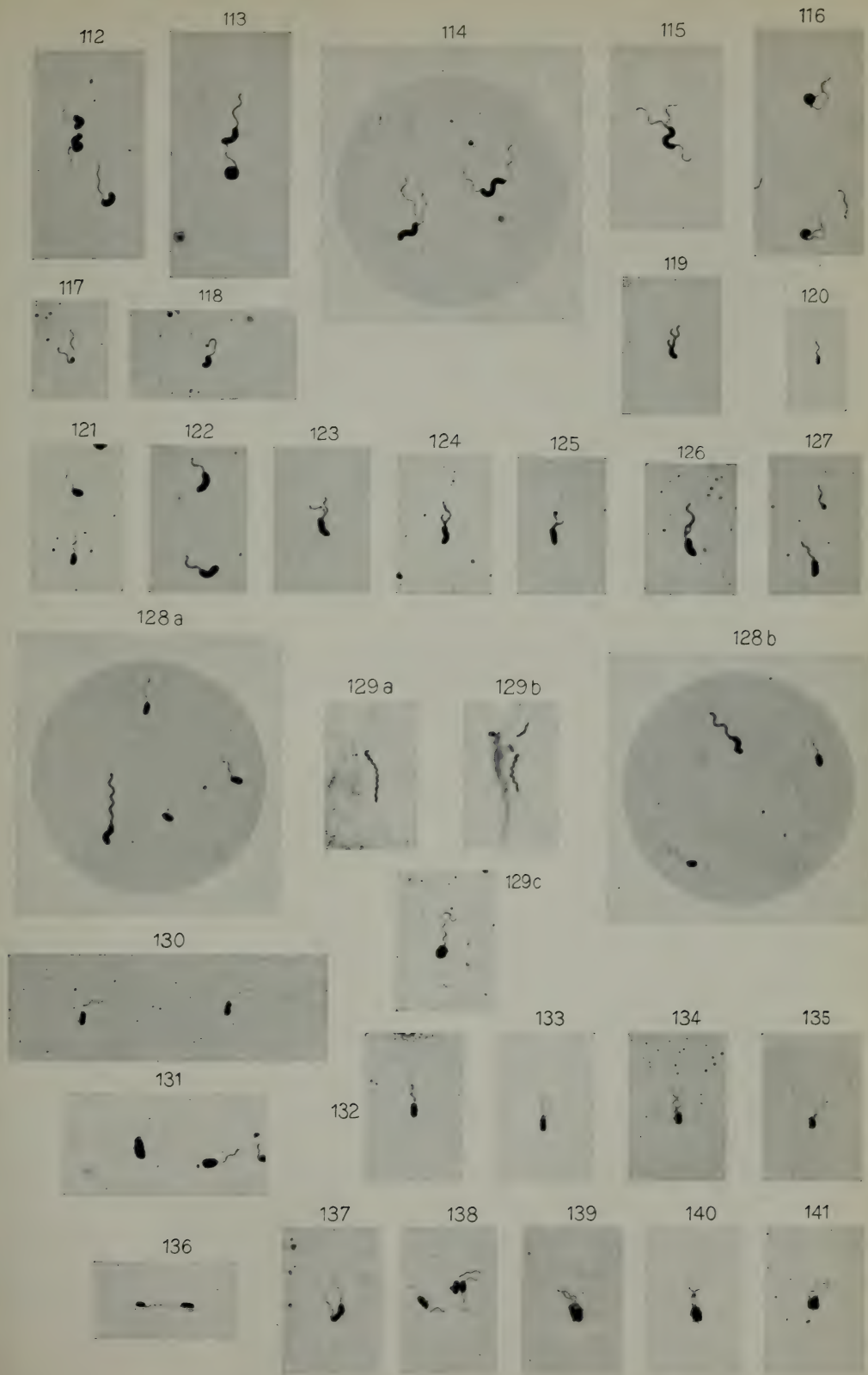


110



111





Nachdruck verboten.

Zur Gramschen Färbung¹⁾.

Ueber die chemische Zusammensetzung der Lipoidsäure und über künstlich grampositiv gemachte Hefezellen.

Von **Josef Schumacher**, Berlin.

Die Frage nach der Ursache der Gramschen Färbung war bekanntlich seit ihrer Entdeckung durch Gram im Jahre 1884 lange Zeit eine offene. Alle Versuche, die in dieser Hinsicht angestellt worden waren, führten zu keinem eindeutigen Resultat, da es durch keine Methode gelang, in kurzer Zeit die Mikroorganismen ihrer Grampositivität zu berauben. Dachten auch einige Autoren an das Vorliegen von Lipoiden in der Zelle, glaubten sie einen Zusammenhang zwischen Lipidvorkommen in der Zelle einerseits und der Grampositivität andererseits bewiesen zu haben, indem es ihnen manchmal gelungen war, die grampositiven Mikroorganismen ihrer Grampositivität durch einfache Alkoholbehandlung zu berauben, so versagte diese Methode bei anderen Autoren wiederum ebenso oft, weshalb diese betonten, daß das Vorliegen von Lipoiden in der Zelle unmöglich allein für den positiven Ausfall der Gramschen Färbung in Frage kommen könne. Dieser differente Versuchsausfall beruhte darauf, wie meine Untersuchungen später ergaben, daß manche Mikroorganismen vorwiegend freie Lipide bilden, die naturgemäß durch lipoidlösende Mittel diesen entzogen werden können, wodurch die betreffenden Mikroorganismen alsdann gramnegativ wurden und andere Keime wiederum vorwiegend Lipoproteide (Lipoideiweißverbindungen) bilden neben freien Lipoiden. Diese Mikroorganismen werden naturgemäß bei einer Behandlung mit lipoidlösenden Mitteln nicht gramnegativ, da die Lipoideiweißverbindungen darin unlöslich sind, wenn das Extraktionsmittel naturgemäß auch einen Teil der freien Lipide diesen zu entziehen vermag, was man ebenfalls am Ausfall der Gramschen Färbung vor und nach der Behandlung von Hefezellen mit Alkohol unschwer erkennen kann. Ausstriche frischer Hefe färben sich bekanntlich stark grampositiv, ca. 99 Proz. der Zellen nehmen dabei die Gramfarbe an. Dieselbe Hefe aber, vorher mit Alkohol behandelt, ergibt Ausstriche, in denen viele Hefezellen nurmehr violett bis schwach violett gefärbt sind im Gegensatz zu den gramgefärbten, unvorbehandelten Zellen, die dabei eine fast schwarze Farbe bekanntlich annehmen.

Auch andere Zellinhaltsstoffe wurden für den Ausfall der Gramschen Färbung verantwortlich gemacht. Deussen²⁾ glaubte beispielsweise, daß die Nukleinsäure der Träger der Gramfärbigkeit sei.

Meine diesbezüglichen Untersuchungen nahmen ihren Ausgang von dem Studium der Zellfärbung. Behandelte ich in vitro wässrige Aufschwemmungen frischer Hefezellen mit Salzsäure ca. 2 Std. lang im Schüttelapparat und wusch die so behandelten Zellen mit dest. Wasser aus, so hatten sie die Fähigkeit, sich mit Methylenblau, Pyronin und Methylgrün zu färben, verloren, da sie sowohl ihrer freien als auch ihrer gebundenen Nukleinsäure verlustig gegangen waren³⁾, was ich dadurch nachzuweisen in der Lage war, daß die so vorbehandelten Zellen außerordentlich viel Phosphorsäure verloren hatten, die Nukleinsäurebruchstücke ferner in der Hydrolysenflüssigkeit sämtlich angetroffen wurden⁴⁾. Ferner erlangten die Zellen ihre frühere Fähigkeit, sich mit den erwähnten Farben zu färben, wieder, sobald ich auf die so nuklein-

1) Zugleich XIV. Mitt. „Zur Chemie der Zellfärbung“. Bezügl. der Mitt. I—XIII s. „Chemie d. Zelle u. Gewebe“, Ztschr. f. d. Probleme d. Gärung usw. XII. 433. Fußn. (Da diese Ztschr. inzwischen ihr Erscheinen eingestellt hat, sind Mitt. IV—VII in der Dermatol. Wochenschr. 1928 erschienen).

2) Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. 85.

3) S. II. Mitt. zur Zellfärbung in Chemie d. Zelle u. Gewebe XIII. 191.

4) Vortr. v. d. Berl. Mikrobiol. Ges. Okt. 1921 und März 1922. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 73. 1922. S. 337 ff. Primär enthält die Hydrolysenflüssigkeit die Nukleotide der Hefenukleinsäure. Nach weiterer heißer Hydrolyse sind sowohl die Phosphorsäure, die Pentose als auch die Purinbasen nachweisbar. Ich kam hierauf schon ausführlich zurück. (II. Mitt. zur „Chemie d. Zellfärbung“ I. c.).

säurefrei gemachten Hefezellen eine Nukleinsäurelösung in essigsauerm Natrium einwirken ließ. Auf diese Weise regenerierte ich eine Nukleinsäureeiweißverbindung in der betreffenden Zelle, wobei ich, wie schon früher betont, keineswegs behaupten will, daß die ursprünglich in der Zelle vorhandene Nukleinsäureeiweißverbindung wieder entstanden war. Damit erschien mir die chemische Theorie des Färbeprozesses erstmalig einwandfrei bewiesen, wobei ich auch hier betonen will, daß primär physikalische Faktoren bei dem Zustandekommen der Färbung der Zellinhaltsstoffe ihre Hand im Spiele haben, insofern beispielsweise absolut lipoidunlösliche Farbstoffe (Pyronin, Methylgrün und fast sämtliche sauren Farbstoffe) Lipide nicht anzufärben vermögen, wohl aber Nukleinsäure, Nukleoproteide und einige andere saure Eiweißkörper (Globulin, Zytose). Der Färbeprozess selbst ist aber letzten Endes ein chemischer Vorgang, worauf auch in dieser Arbeit wieder zurückgekommen werden muß. Das dürfte auch daraus hervorgehen, daß sofort auch in den Lipoiden Zellfärbungen entstehen, wenn man dem Farbstoff Gelegenheit gibt, in die Lipide primär einzudringen: mit anderen Worten, wenn man lipoidlösliche Farbstoffe verwendet: Fuchsin, Gentianaviolett, Viktoriablau, Malachitgrün und andere¹⁾. Besonders eklatant tritt dies in Erscheinung bei Vornahme der Lipidfärbung mit der rotbraunen, absolut wasserunlöslichen Viktoriablaubase. Dabei erkennt man, daß die Lipide sich im Tone der Salze dieser Base tiefblau gefärbt haben.

Färbte ich damals die nach der obigen Methode gewonnenen nukleinsäurefrei gemachten Hefezellen, so nahmen sie, wie schon betont, das Methylenblau, das Pyronin und das Methylgrün nicht mehr an. Wohl aber trat noch mit basischen Farbstoffen eine Färbung ein, wenn ich die Farbstoffe der Fuchsinreihe (Fuchsin, Gentianaviolett, Malachitgrün, Viktoriablau) gebrauchte. Anfänglich glaubte ich für das Eintreten dieser noch stattfindenden Zellfärbung Lipide verantwortlich machen zu können, was ich damals aber verneinte, weil auch eine 24stünd. Nachbehandlung solcher Zellausstriche²⁾ in einer Küvette mit Aether ihre Färbungen nicht verschwinden ließ. Als aber daran gedacht wurde, daß die Lipide ebenso wie die Nukleinsäure auch als Lipideiweißverbindungen in der Hefezelle vorkommen konnten und ich die nukleinsäurefreien Zellen mit Salzsäure-Alkohol (!) nachbehandelte, indem ich dadurch auch der durch die Salzsäure aus der Lipideiweißverbindung abgespaltenen Lipidsäure Gelegenheit gab, nun ihrerseits ebenfalls in Lösung gehen zu können, was beim Gebrauch wässriger Salzsäure zur Hydrolyse nicht möglich war, so war mir damit ein voller Erfolg beschieden, worüber bereits auf dem Göttinger Kongreß berichtet wurde³⁾. Nach dieser Behandlung hatten sämtliche Hefezellen mit Ausnahme einiger Sporen sowohl ihre Fuchsinfärbbarkeit als auch ihre Gram-Festigkeit verloren.

Nach meiner festen Ueberzeugung, daß der Zellfärbung chemische Prozesse zugrunde liegen, mußte es möglich sein, das die Gramsche Färbung verursachende Lipoid, die Lipidsäure, mit welchem Namen ich diese Substanz damals belegte, auch makrochemisch darzustellen. Nach der bereits andernorts mitgeteilten Technik⁴⁾ war ich tatsächlich in der Lage, aus dem Salzsäurealkohol ein Lipoid zu isolieren, das außerhalb der Zelle eine positive Gramsche Färbung gab. Ich erhielt aber damals, wie ich dies auch gleich annehmen zu

1) Vortr. v. d. Berl. Mikrobiol. Ges. 17. Nov. 1924. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 78. 1925 und „Zur Chemie der Desinfektion und über Beziehungen zwischen chemischer Konstitution und pharmakologischer Wirkung“. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 98.

2) Zur Entfernung der Nukleinsäure verwendete ich damals HNO_3 (1:10 verdünnt).

3) Zur Gramschen Färbung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 93. S. 266.)

4) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 93. I. c.

dürfen glaubte, keine reine Substanz, sondern ein Lipoidgemisch, was schon aus der kombinierten Gram-Fuchsinfärbung hervorging, indem die große Masse des Lipoids grampositiv war, einige Teile aber fuchsinrot (gramnegativ) gefärbt waren.

Dieser Versuch hatte noch keine große Beweiskraft, da in diesem Lipoidgemisch außerdem auch noch die freien Lipide der Hefe enthalten gewesen sein müssen. Zur einwandfreieren Entscheidung dieser Frage mußte also besser vorbehandeltes Material verwendet werden, worauf ich gleich zurückkomme.

Was nun die chemische Zusammensetzung der Lipoidsäure anlangt, so erwähnte ich bereits früher¹⁾, daß die Bezeichnung „Lipoidsäure“ nur einen Namen für den sauren Anteil der Hefe- und der Bakterienlipoproteide darstelle, daß aber am Aufbau der Lipoidsäuren, von denen wir übrigens grampositive und gramnegative kennen, nicht unbedingt „Lipide“ beteiligt zu sein brauchten, das Vorliegen einer Substanz aus der Fettsäurereihe sogar sehr viel wahrscheinlicher sei. Ich will versuchen, den Beweis dafür zu führen, daß eine Fettsäureverbindung am Aufbau der Lipoidsäure beteiligt ist. An derselben Stelle glaubte ich erwähnen zu dürfen, daß wahrscheinlich eine Fettsäure-Zucker-Basenverbindung vorlag, was aber nicht ganz den Tatsachen entspricht. Auch mein damals verwendetes Versuchsmaterial war noch durch freie Lipide (Zerebroside) verunreinigt, wie sich herausstellte. Die Aufklärung der chemischen Zusammensetzung der Lipoidsäure war also vorzugsweise eine Frage des Materials.

Um einwandfreies Versuchsmaterial zu erhalten, ging ich daher in folgender Weise vor. 500 g frische Hefe wurde zuerst mit 1 Liter Azeton in der Reibschale verrieben und abgenutscht. Dasselbe Prozedur wurde noch zweimal wiederholt. Darauf wurde die Hefe in derselben Weise mit Alkohol behandelt, zuletzt mit je 1 Liter Aether. Vor Anstellung des Versuches wurden aber 50 g dieser so gewonnenen Trockenhefe nochmals mit 500 ccm Aether im Schüttelapparat $\frac{1}{2}$ Std. lang extrahiert. Bei einer nochmaligen Nachbehandlung mit Aether hinterließ dieser beim Verdunsten keinen Rückstand mehr²⁾.

Glaubte ich früher, daß es auf diese Weise bereits gelungen war, die Hefe von sämtlichen ungebundenen Lipoiden befreit zu haben, so täuschte ich mich darin. Bei einfachem Aufkochen der so gewonnenen Trockenhefe mit Alkohol und Filtration durch einen Heißwassertrichter erkannte ich sofort, daß der absolut farblos und klar abfließende Alkohol beim Erkalten ein N- und P-haltiges Lipoid in nicht unbeträchtlichen Mengen ausfallen ließ, von dem die Hefe außerordentlich schwer zu befreien war, da es sich nur in heißem Alkohol löst. Es besteht, wie aus einer weiteren Mitteilung hervorgehen dürfte, höchstwahrscheinlich aus Sphingomyelin. Das Versuchsmaterial mußte daher noch mehreremal mit Alkohol ausgekocht, durch den Heißwassertrichter filtriert und mit kochendem Alkohol solange nachgewaschen werden, bis eine Probe des ablaufenden Alkohols im Probierröhrchen beim Abkühlen keine Trübung mehr gab. Erst dann war die Hefe absolut frei von ungebunden vorliegenden Lipoiden³⁾.

Die Lipoid-eiweißverbindungen der Hefe.

Welche Lipoid-eiweißverbindungen enthält alsdann noch die Hefe? Soweit unsere Kenntnisse bis heute reichen, liegen alsdann noch 7 verschiedene Lipoid-eiweißverbindungen vor, die wir aber auf Grund ihrer verschiedenen Löslichkeit und ihrer verschieden schweren Hydrolysierbarkeit zu

1) „Zur Chemie der Zellkerne und einiger Nukleinsäure-eiweißverbindungen“. (Chemie der Zelle u. Gewebe. 1925. XII. 192.

2) Ein Soxhletscher Apparat stand mir damals (z. Zeit dieser Versuche im Jahre 1925) nicht zur Verfügung.

3) Ebenso mußte eine im Soxhlet entfettete Hefe nachbehandelt werden.

unterscheiden vermögen und über deren Lokalisation in der Zelle wir auf Grund der Zellfärbung genau unterrichtet sind.

1) In erster Linie kommt das Lipoproteid der Hefe, die Lipoidsäure-eiweißverbindung in Frage, die im ganzen Endoplasma der Hefe verteilt ist und an die dort ausschließlich die Gram-Positivität gebunden ist. Beweis: Nach ihrer Entfernung mit Salzsäurealkohol in der Kälte ist die ganze Hefezelle gramnegativ, worauf die Lipoidsäure im Salzsäurealkohol sich befindet, aus dem sie als grampositives Natriumsalz nach Alkalisierung mit NaOH und Versetzen mit der 5fachen Menge Wasser zu isolieren ist, wobei das Natriumsalz als flockig weißgelber Niederschlag ausfällt.

2) Als zweite Lipoideiweißverbindung sind in dem Versuchsmaterial noch die Karyoproteide¹⁾, die Lipoideiweißverbindungen, die vorwiegend den Hefekern aufbauen und die ebenfalls grampositiv sind²⁾ (nach Salzsäurehydrolyse ist der Hefekern noch zugegen, nicht mehr aber nach Salzsäurealkoholbehandlung).

3) Als dritte Lipoideiweißverbindung ist die grampositive Lipoideiweißverbindung zu erwähnen, die in der Kittsubstanz der Hefe³⁾ vorkommt und deren chemische Zusammensetzung mit jener der Lipoidsäure des Hefeendoplasmas identisch zu sein scheint. Sie besitzt dieselben chemischen und physikalischen Eigenschaften wie das grampositive Lipoproteid des Hefeendoplasmas und ist auf dieselbe Art zu gewinnen.

4) Eine vierte (gramnegative) Lipoideiweißverbindung, die höchstwahrscheinlich, wie die Analyse ergab, eine Sphingomyelin-Eiweißverbindung ist, ist ebenfalls in der Kittsubstanz der Hefe zugegen. Das betreffende Lipoid ist dieser erst durch heißen Alkohol zu entziehen nach vorhergegangener Hydrolyse durch Salzsäure⁴⁾!

5) Eine fünfte Lipoideiweißverbindung, ein gramnegatives Lipoproteid ist im Endoplasma der Hefe vorhanden und von mir bereits früher, wie schon betont, in Göttingen⁵⁾ nachgewiesen worden.

6) Eine sechste (gramnegative) Lipoideiweißverbindung ist sowohl im Endoplasma als auch in der Kittsubstanz als Plasteoproteid vorhanden, worunter ich die Eiweißverbindungen der Plastinsäure verstehe, die durch ihre Hydrolysierbarkeit erst in der Siedehitze und Löslichkeit in heißem Alkohol von den übrigen Lipoideiweißverbindungen genau abgegrenzt auch makrochemisch dargestellt wurde⁶⁾.

7) Eine siebente Lipoideiweißverbindung befindet sich endlich in der Membran des Hefekerns. Sie ist nachweisbar bei Anfertigung eines hängenden Tropfens unter Verwendung nukleinsäure- und lipoidsäurefrei gemachter Hefe⁷⁾ und der Viktoriablause. Der farblose Hefekern wird alsdann von einem feinen, blauen Ring umsäumt. Durch die Beständigkeit Alkohol und Äther gegenüber bei der vorherigen Entfernung der Lipoidsäure ist das Vorliegen eines freien Lipoids ausgeschlossen, zumal die Hefe außerdem mit heißem Alkohol vorbehandelt worden war. Durch ihre Fähigkeit, auch

1) S. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 97. S. 81 ff.

2) Hierüber siehe VI. Mitt. „Zur Zellfärbung“. Dermat. Wochenschr. 1928. Bd. 86. S. 593.

3) Darunter verstehen wir die der Zellmembran der Hefe aufsitzende feine Lipoidschicht die die älteren Autoren oftmals als „Schleimschicht“ bezeichneten. Siehe Abb. der Kittsubstanz, d. Centralbl. Tafel II. Orig. Bd. 98. S. 67.

4) Ausführlichere Mitteilungen über diesen Gegenstand s. d. Centralbl. 1928.

5) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 93. S. 267.

6) „Ueber die chemische Zusammensetzung des Bakterienkerns“. D. Centralbl. Orig. Bd. 97. S. 81) und VII. Mitt. „Zur Chemie der Zellfärbung“. (Dermat. Wochenschr. 1928).

7) Technik zur Gewinnung „nukleinsäure- und lipoidsäurefreier Hefe“ s. VI. Mitt. „Zur Zellfärbung“. (Dermat. Wochenschr. 1928).

nach kalter HCl-Alkoholhydrolyse erst durch heißen Alkohol extrahierbar zu sein, unterscheidet sich die saure Komponente der in der Kernmembran vorliegenden Lipoideiweißverbindung scharf von allen übrigen im Hefe-Endoplasma vorkommenden Lipoideiweißverbindungen. Sie teilt diese Eigenschaft lediglich mit den erwähnten gramnegativen Lipoproteiden der Kittsubstanz.

Aus diesem Sammelsurium von Lipoideiweißverbindungen wäre es beinahe unmöglich, ein bestimmtes Lipoid zu isolieren, wenn diese Lipide sich nicht durch ihre physikalischen und chemischen Eigenschaften von einander unterscheiden würden, wie schon betont. Alle Lipoid-Eiweißverbindungen sind naturgemäß alkohol- und ätherunlöslich.

Tabelle.

Die Lipoidkomponente des	Nach kalter Hydrolyse mit HCl:		
	in kaltem Alkohol	in Aether	in heißem Alkohol
grampositiven Lipoproteids des Endoplasmas, die Lipidsäure ist	++ ¹⁾	++	.
Karyoproteids, die Karyoninsäure ist	+ ²⁾	++	.
grampositiven Lipoproteids der Kittsubstanz ist	++	++	.
gramnegativen Lipoproteids der Kittsubstanz ist	—	—	+
gramnegativen Lipoproteids des Endoplasmas ist	+	—	.
Plasteoproteids, die Plastinsäure ist	—	—	+ ³⁾
gramnegativen Lipoproteids der Kernmembran ist	—	—	+

Kehren wir nun nach diesen Betrachtungen zu unserem Ausgangsmaterial zurück, so erkennen wir, daß wir bei kalter HCl-Alkoholhydrolyse in der Hydrolysenflüssigkeit vor uns haben: die spielend alkohollösliche grampositive Lipidsäure des Lipoproteids des Endoplasmas und die, wie der Aufbau der Lipoproteide ergeben wird, mit ihr höchstwahrscheinlich identische grampositive Lipidsäure des grampositiven Lipoproteids der Kittsubstanz, ferner die etwas schwerer in Alkohol lösliche gramnegative Lipidsäure des Hefeendoplasmas und die ebenfalls etwas schwerer in Alkohol lösliche Karyoninsäure. Kraft der verschiedenen hohen Alkohollöslichkeit dürfte es voraussichtlich möglich sein, die einzelnen Lipidsäuren zu trennen, wie das auch der Fall ist. Ich komme hierauf gleich noch zurück.

Da aber die Isolierung der einzelnen Lipidsäuren aus der Salzsäure-Alkohol-Hydrolysenflüssigkeit größere Schwierigkeiten bereitet, wurde die Isolierung mit Aether vorgenommen.

Technik: 100 g des auf die oben beschriebene Weise gänzlich von freien Lipoiden befreiten Ausgangsmaterials wurden mit 750 ccm 1:4 verdünnter konz. Salzsäure (spez. Gew. 1,19, 37proz.) versetzt, 750 ccm Aether hinzugesetzt und das ganze 6 Std. lang im Schüttelapparat geschüttelt. Nach dieser Zeit nimmt man eine kleine Probe ab, verdünnt mit der 5fachen Menge dest. Wassers, zentrifugiert und wäscht das Zentrifugat noch 5mal in der Zentrifuge mit Aqu. dest. aus. Auf Objektträger ausgestrichen, hitzefixiert, müssen diese Ausstriche

1) + bedeutet Löslichkeit, ++ spielende Löslichkeit, — Unlöslichkeit.

2) Verfolgt man den Abbau des Lipoproteids der Hefe durch HCl-Alkohol von Stunde zu Stunde unter dem Mikroskop, so erhält man oft Bilder, bei denen die Hefezelle schon völlig oder beinahe gramnegativ geworden ist, der Kern aber noch grampositiv gefärbt hervortritt. S. auch Mitt. VI „Zur Chemie d. Zellfärbung“ a. a. O.

3) Aber erst nach vorausgegangener heißer Hydrolyse mit HCl-Alkohol.

völlig gramnegativ geworden sein. Ist die Hydrolyse und die Entfernung der Lipoidsäure noch nicht genügend weit fortgeschritten, was man daran erkennt, daß einzelne Hefezellen noch in der Gramfarbe gepunktelt erscheinen¹⁾, so schüttelt man noch so lange weiter, bis ein neuer Ausstrich absolut gramnegativ geworden ist.

Der Vorgang ist hierbei folgender: Die Salzsäure spaltet aus dem Lipoproteid die Lipoidsäure hydrolytisch ab. Diese wird ihrerseits sofort von dem Aether in Lösung gebracht, in welchem sie sich alsdann befindet. Auf diese Weise erhält man einen hellbraungelb gefärbten Aether. Zweckmäßig extrahiert man das Ganze nochmals mit einer größeren Menge Aether und vereinigt beide Aetherauszüge. Verdampft man nun den Aether, so hinterbleibt eine relativ kleine Menge eines braunen, fettigen Rückstandes.

Nach den Löslichkeitsverhältnissen, die in unserer Tabelle wiedergegeben worden sind, enthält er:

- 1) Die Lipoidsäure des grampositiven Lipoproteids des Endoplasmas.
- 2) Die Lipoidsäure des grampositiven Lipoproteids der Kittsubstanz, chemisch mit ersterer höchstwahrscheinlich identisch.
- 3) Die Karyoninsäure.

Die saure Komponente aller anderen Lipoideiweißverbindungen befindet sich bei dieser Behandlung, ihrer Aetherunlöslichkeit wegen, noch in der Hefe. Die noch vorhandene Gegenwart der gramnegativen Lipoidsäure des Endoplasmas in der Hefe wird bewiesen durch die nach der Salzsäureätherhydrolyse noch vorhandene positive Fuchsinfärbung, während diese sofort negativ ausfällt, wenn mit Salzsäure-Alkohol statt mit Salzsäureäther hydrolysiert wird, da sie in Alkohol im Gegensatz zu Aether löslich ist. Mit Alkohol kann sie daher auch nach der oben durchgeführten Hydrolyse den Zellen noch entzogen werden, wodurch sie auch makrochemisch zu gewinnen ist. Die übrigen Lipide sind ebenfalls hierbei nicht entfernt, wie einmal die positive Viktoriablaufärbung der so behandelten Zellen beweist. Man erkennt einen stark viktoriablau gefärbten Zellinhalt und bei der Färbung in vitro die blau gefärbte Kittsubstanz. Ebenfalls bei der Färbung in vitro mit der Viktoriablaubase erhält man die blaue Membran des Hefekerns.

Mit zunehmender makrochemischer Entfernung der sauren Komponente der übrigen Lipoideiweißverbindungen, deren Eigenschaften aus der Tabelle hervorgehen, nimmt die Viktoriablaufärbung sukzessive ab, wobei wir diese Färbung an den makrochemisch isolierten Lipoiden wieder finden, während sie jetzt in den betreffenden Zellabschnitten fehlt, um erst nach völliger Entfernung aller Lipoidsäuren, auch der Plastinsäure mit heißem Salzsäurealkohol völlig negativ zu werden. Mit anderen Worten: Es läßt sich also histochemisch durch die Färbung mit Viktoriablau zeigen (und bei feineren Details wie der Kernmembran mit der Viktoriablaubase in vitro) daß die anderen Lipoideiweißverbindungen noch in der Zelle an ihren Orten sind und daß nach ihrer restlosen, sukzessiven makrochemischen Entfernung jetzt auch die Viktoriablaufärbung abnimmt, um am Schluß völlig zu fehlen.

Nun werde ich gleich zeigen können, daß die grampositive Lipoidsäure des Lipoproteids des Endoplasmas, wie schon betont, höchstwahrscheinlich chemisch identisch ist mit der grampositiven Lipoidsäure der Kittsubstanz. Sie zeigen auch beide die gleichen physikalischen Eigenschaften: spielende Löslichkeit in Alkohol und Aether, während das dritte in dem Aetherextrakt vorhandene Lipoid, die Karyoninsäure, zwar auch in Aether, aber sehr viel schwerer

4) Abgebildet in Mitt. VI zur Zellfärbung. Dermat. Wochenschr. 1928.

alkohollöslich ist, wie schon aus den Versuchen in der Tabelle hervorging. Diese Eigenschaft benützten wir zur Trennung.

Lösen wir nämlich den oben erhaltenen braunen Rückstand aus dem Aetherextrakt der HCl-Aetherhydrolyse in Alkohol, so erkennen wir, daß nicht alles in kaltem Alkohol in Lösung geht, sondern ein Rückstand bleibt¹⁾. Die filtrierte alkoholische Lösung wurde nun auf dem Wasserbade zur Trockne gebracht, wobei wiederum ein brauner, fettiger Rückstand zurückbleibt.

Histochemisches Verhalten des Rückstandes der alkoholischen Lösung.

Dieser Rückstand färbt sich etwas mit Methylenblau, gut mit Fuchsin, und ist absolut grampositiv und bleibt es auch bei längerer Alkoholeinwirkung (1 Stunde und länger). Stellt man einen Ausstrich in eine Küvette mit der roten Lösung der Viktoriablaubase in Xylol, so nimmt er in der Lösung augenblicklich eine tiefblaue Farbe an. Mit sauren Farben (Erythrosin) färbt sich der Ausstrich nicht²⁾. Zur Vornahme der Färbung nimmt man etwas von dem fettigen Rückstand mit einem mit etwas entfetteter Watte unwickelten Stäbchen auf und streicht ihn auf Objektträger, worauf er sofort haftet. Alsdann ist sein Verhalten ohne weiteres feststellbar.

Chemisches Verhalten des Rückstandes der alkoholischen Lösung.

Wird ein Teil des Rückstandes wieder in Alkohol gelöst, mit der doppelten Menge dest. Wassers versetzt und mit Salzsäure im Verhältnis 1:10 1 Stunde lang hydrolysiert, so reduziert darauf die Flüssigkeit Fehlingsche Lösung nicht. Aus der braungefärbten Hydrolysenflüssigkeit läßt sich eine Fettsäure durch Ausschütteln mit Aether gewinnen. Der Rückstand des Aethers wird ebenfalls mit der Viktoriablaubase (in Xylol oder Eukalyptol gelöst) blau und entfärbt in alkoholischer Lösung mit Soda rot gefärbte Phenolphthaleinlösung. Die vorliegende Fettsäure bindet Jod und dürfte deswegen sowohl als auch ihrer Grampositivität wegen zu den ungesättigten Fettsäuren zu rechnen sein. Die Bestimmung der Jodzahl und ihre genaue Analyse soll späterhin noch erfolgen. Verascht erweist sich der Rückstand als phosphorsäurehaltig. Ein Stickstoffgehalt war mit der Lasseigneschen Probe, die negativ ausfiel, nicht zu ermitteln.

Untersuchung der in Alkohol unlöslichen Substanz aus dem Rückstand des ursprünglichen Aetherextraktes.

Die Substanz färbt sich auf Objektträger ausgestrichen außerordentlich gut mit Methylenblau, stark mit Fuchsin und ist ebenfalls grampositiv, zeigt also im wesentlichen die Eigenschaften der Karyoninsäure in der Zelle. Es liegt dasselbe färberische Verhalten vor, aus dem wir aber keine bindenden Schlüsse ziehen wollen. Auch ist der Rückstand wie die Karyoninsäure in der Zelle relativ schwer in kaltem Alkohol löslich. Zu einer N- und P-Bestimmung reichte das Material nicht aus³⁾.

Aus diesen Untersuchungen ergibt sich, daß die isolierte Lipoidsäure eine Fettsäure-Phosphorsäureverbindung, wahrscheinlich eine Fett-

1) Der Gedanke, daß die Karyoninsäure vielleicht mit Lezithin identisch wäre oder mit einem Lezithin ohne Cholin, veranlaßte mich eine Trennung durch Azetonfällung zu versuchen. Diese mißlang aber, da auch die Karyoninsäure, wie das aus Versuchen an der intakten Hefezelle bei der Hydrolyse mit Salzsäureazeton bereits hervorging, ebenfalls in Azeton löslich ist, daher kein gewöhnliches Lezithin sein kann. Die Möglichkeit jedoch, daß es daher Lezithine mit einer ungesättigten Fettsäure gibt, die in Azeton löslich sind, ist daher natürlich nicht ausgeschlossen.

2) Zur Ausschließung einer stattgefundenen Adsorption des Farbstoffes kommen die Ausstriche nach dem Färben stets eine Viertelstunde lang in eine Küvette mit dest. Wasser, (so färbt sich beispielsweise auch die gramnegativ gemachte Hefe noch mit Fuchsin, gibt aber in Wasser im Gegensatz zu Hefezellen, die ihre Lipide noch enthalten, in der Küvette den adsorbierten Farbstoff wieder ab).

3) Ich erwähne die Analyse der Substanz, in der wahrscheinlich Karyoninsäure vorliegt, der Vollständigkeit halber und behalte mir eine spätere genauere Analyse noch vor.

säure-Glyzerinphosphorsäureverbindung zu sein scheint, wobei die Phosphorsäure direkt mit dem Aminosäureskelett des basischen Eiweißes zu den Lipoproteiden verbunden zu sein scheint. Das Vorliegen eines Zerebrosides konnten wir durch die negative Fehlingsche Probe nach Hydrolyse der Substanz bereits ausschließen.

Selbstverständlich gebe ich mich keiner Täuschung hin und betrachte es etwa jetzt schon als endgültig erwiesen, daß das in der Hefe vorliegende grampositive Lipoprotein die Konstitution: Fettsäure(Glyzerin)-Phosphorsäure-basisches Eiweiß hat, wenn ich das auch für das Wahrscheinlichste halte, denn es konnte ja gerade ebensogut eine Verbindung folgender Konstitution vorliegen: Fettsäure-(Glyzerin)-Phosphorsäure-Base-Eiweiß.

Mit anderen Worten: Es konnte ein richtiges Phosphatid mit Eiweiß verbunden vorliegen, also eine Fettsäure oder Fettsäure-Glyzerinphosphorsäure Cholin-Eiweißverbindung, oder eine Verbindung, die eine andere organische Base wie Cholin oder Aminoäthylalkohol enthält, zumal wir ja gar nicht wissen, ob durch die Salzsäureätherhydrolyse jene organische Base bereits hydrolytisch abgespalten worden ist. Da ich sie aber in der alkoholischen Lösung der Lipoidsäure nicht fand, diese N-frei ist, so konnte sie sich höchstens in der salzsäurehaltigen wässrigen Flüssigkeit als Chlorhydrat befinden.

Die Möglichkeit indessen, daß ein richtiges Phosphatid mit Eiweiß verbunden sein sollte, halte ich für wenig wahrscheinlich, denn einmal ist es chemisch sehr viel näherliegend anzunehmen, daß eine Fettsäure-(Glyzerin)-Phosphorsäureverbindung als saure Komponente mit einem basischen Eiweiß zu einem Lipoprotein verbunden ist, als wenn diese saure Substanz vorher noch mit dem basischen Cholin oder einer anderen N-haltigen organischen Base verbunden ist und dann erst mit dem basischen Hefeeiweiß verknüpft sein soll. Denn da dieses selbst sehr stark basischer Natur ist, wie das aus seiner Fähigkeit hervorgeht, sich außerordentlich gut mit sauren Farben und anderen sauren Körpern zu verbinden, muß es seinerseits mit einer stark sauren Komponente im Lipoprotein verbunden sein, was nicht der Fall sein könnte, wenn an dem Fettsäure-(Glyzerin) Phosphorsäurerest noch eine organische Base sitzen würde, wenn das chemisch immerhin auch nicht ausgeschlossen wäre.

Weiterhin muß man sich fragen: Warum bleibt in der Sphingomyelin-Eiweißverbindung der Kittsubstanz, wo dieser Fall der Verbindung eines echten Phosphatids mit Eiweiß vorliegen dürfte, die N-haltige Base am Lipoid trotz der gleichen HCl-Aether oder HCl-Alkoholbehandlung? Können wir doch das intakte Phosphatid nach der Salzsäurehydrolyse mit heißem Alkohol extrahieren¹⁾ und warum soll es bei der Lipoidsäure durch die gleiche Behandlung abgespalten werden, was immerhin dennoch möglich wäre?

Ich glaube aber diese Frage durch den nachfolgend zu schildernden Aufbau eines Lipoproteids in dem Sinne entschieden zu haben, daß im grampositiven Lipoprotein der Hefe tatsächlich eine Fettsäure-(Glyzerin)-Phosphorsäureeiweißverbindung vorliegt und nicht die Verbindung eines echten Phosphatids mit dem basischen Eiweiß der Hefe.

1) „Zur Chemie der Zellfärbung“. IV.—VI. Mitt. 1. c.

Die Gewinnung künstlich grampositiv gemachter Hefezellen.

Nachdem es gelungen war, die Hefezelle künstlich gramnegativ zu machen und sie der Lipoidsäure ihres Lipoproteids zu berauben, mußte es erstrebenswert erscheinen, den Versuch zu wagen, die so veränderten Zellen auf künstlichem Wege wiederum grampositiv zu machen. Wenn es auch ohne allzugroße Mühe durch einen einfachen Kunstgriff (Einwirkenlassen von Nukleinsäure in einer Lösung von essigsauerm Natrium) gelungen war, in der Hefezelle wieder eine Nukleinsäureeiweißverbindung zu regenerieren¹⁾, so waren die Aussichten für die Wiedereinführung der Lipoidsäure in die gramnegativ gemachten Zellen bedeutend schlechtere, da wir es hier mit einer Substanz zu tun hatten, die nur in Alkohol oder Aether, nicht aber in Wasser löslich war. Dennoch gelang es, nach einigen Vorversuchen die Zellen wieder grampositiv zu machen.

Versuchsmaterial: 100 g käufliche Bäckerhefe wurden mit 1 Liter 1:4 verdünnter konz. Salzsäure (37proz.) durch eine ca. 2 Std. lange Behandlung im Schüttelapparat nukleinsäurefrei gemacht. Darauf wurden die Zellen 5mal mit Aqua dest. in der Zentrifuge gewaschen und mit 1 Liter Salzsäurealkohol²⁾ angerührt und wieder, diesmal aber 6 Std. lang geschüttelt. Zeigte ein Objektträgerausstrich einer kleinen Probe, daß die Zellen restlos gramnegativ geworden waren, so war der Versuch beendet, andernfalls wurde solange weiter geschüttelt, bis dieser Punkt erreicht war. Alsdann wurde die Hefe in der Zentrifuge zur Entfernung der Hydrolysenprodukte 5mal mit gewöhnlichem Alkohol, zuletzt mit Alk. abs. gewaschen.

Lag in dem Lipoproteid, wie weiter oben betont, eine Fettsäure-(Glyzerin)-Phosphorsäure-Basen-Eiweißverbindung vor, so war es vielleicht möglich, wenn man einige Platinösen der eben gewonnenen nukleinsäure- und gramfreien Hefezellen in eine alkoholische Lezithin-Lösung (ex ovo) eintrug und mehrere Stunden das Gemisch schüttelte, daß eine Lezithin-Eiweißverbindung zustande kam, was man bei der Gram-Negativität des Lezithins ex ovo alsdann an einer auftretenden Fuchsfärbung der so behandelten Zellen hätte konstatieren können, die diese Hefezellen bekanntlich nach ihrer Vorbehandlung nicht mehr gaben, wie früher schon betont. Ein einwandfreies Versuchsergebnis war indessen hierbei nicht zu erhalten.

Auch mit Lezithin und Kephalin enthaltendem Aetherextrakt aus Gehirn, der außerdem geringe Mengen Zerebroside und Sphingomyelin enthielt, war das Resultat auf die beschriebene Weise ein negatives. Ebenso wenig war ein positives Ergebnis zu erhalten, wenn die Lipoiden vorher mit verd. HCl teilweise hydrolytisch aufgespalten worden waren.

Nun wurde Hefelezithin genommen, das durch Alkoholextraktion frischer Hefe erhalten worden war. Die honiggelb gefärbte Flüssigkeit hinterlies beim Verdampfen einen braunen, grampositiven Rückstand und enthielt neben anderen Lipoiden, das Hefelezithin. Auch hiermit war kein Erfolg zu erzielen, auch dann nicht, wenn man den alkoholischen Auszug bis zur schwachen Opaleszenz mit der gleichen Menge dest. Wassers versetzte, ebenso wenig nach schwächerer oder stärkerer Salzsäurehydrolyse. Auch wenn man das Hefelezithin in alkoholischer Lösung einwirken ließ, der einige Kubikzentimeter Bariumhydroxyd zugesetzt worden waren, gelang es nicht, die Hefe wieder grampositiv zu machen. Bei dieser Versuchsanordnung bestand wenigstens theoretisch die Möglichkeit, daß die Zellen grampositiv würden, nachdem aus dem Lezithin

1) „Zur Chemie der Zellfärbung“ IV. Mitt. I. c.

2) HCl konz. 37proz., 25 ccm, Alkohol 96proz. ad 100.

durch das Bariumhydroxyd das Cholin während der langen Versuchsdauer (6 Std. langes Schütteln) abgespalten worden war.

Den ersten teilweisen Erfolg erzielte ich erst mit Glycerinphosphorsäure.

Verdünnte ich die käufliche 25proz. Lösung dieser Substanz mit der gleichen Menge dest. Wasser und trug einige Oesen der nukleinsäure- und gramfreien Hefe ein und ließ das ganze 6 Std. lang im Schüttelapparat aufeinander einwirken, zentrifugierte ab, machte Objektträgerausstriche, stellte diese aber vor Vornahme der Gramschen Färbung erst noch einige Minuten in Alkohol abs., so war der Ausstrich nach der Gramschen Färbung zwar makroskopisch farblos, mikroskopisch aber waren einige Zellen absolut grampositiv geworden, die meisten jedoch völlig gramnegativ.

Einen vollen Erfolg hatte ich aber mit der alkoholischen Lösung der Lipoidsäure, die bekanntlich oben so gewonnen worden war, daß frische lipoidfreie Hefe mit HCl-Aether nukleinsäure- und gramfrei gemacht, der Aether zum Verdampfen gebracht worden war und der braune Rückstand mit Alkohol in der Kälte extrahiert wurde, wobei wir uns erinnern wollen, daß ein in kaltem Alkohol unlöslicher Rückstand blieb.

Brachte ich nun einige Oesen der oben unter „Versuchsmaterial“ gewonnenen nukleinsäure- und gramfreien Zellen in die alkoholische Lösung der Lipoidsäure und ließ das Ganze 6 Std. lang im Schüttelapparat einwirken, so waren alsdann sämtliche Hefezellen grampositiv geworden¹⁾. Sie behielten auch die Gram-Farbe viele Stunden lang bei Nachbehandlung mit Alkohol. In einem zweiten Versuch wurde die alkoholische Lösung der Lipoidsäure bis zur schwachen Opaleszenz mit der gleichen Menge Wasser versetzt und dann die Zellen hinzu gebracht. Auch hier waren die Zellen nach 6stünd. Schütteln grampositiv geworden.

Liegt hier nun eine einfache Adsorption der phosphorhaltigen Fettsäure der Lipoidsäure vor, oder eine chemische Verbindung? Diese Frage müssen wir weiterhin stellen. Eine einfache Adsorption der Substanz an die Hefezelle glaube ich dadurch ausschließen zu können, daß die Zellen sich grampositiv färbten, obwohl ich naturgemäß vor Vornahme der Gramschen Färbung die mit der Lipoidsäure behandelten gramnegativen Zellen mehreremale mit Alkohol in der Zentrifuge auswusch, wobei also adsorbierte Lipoidsäure, ihrer spielenden Alkohollöslichkeit wegen, Gelegenheit hatte, glatt durch diesen entfernt zu werden. Das war aber nicht der Fall. Entscheidender und schwerer ins Gewicht fällt aber folgende Beobachtung. Einmal waren zwar alle Hefezellen grampositiv geworden, sie zeigten aber nicht sämtlich die tiefviolette Gram-Farbe, was wohl der Fall gewesen wäre, hätte eine einfache Adsorption der Substanz vorgelegen, sondern die Zellen zeigten ganz verschiedene Töne des Schwarzvioletts, hatten also ganz verschieden große Mengen der Lipoidsäure gebunden. Noch mehr in diesem Sinne, für das Vorliegen einer chemischen Verbindung, spricht mir aber die weitere Beobachtung, daß die Zellen nur langsam die Lipoidsäure aufnahmen und nicht mit einem Schlage. Entnimmt man nämlich dem Versuch nach $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{2}$, 1 und 3 Std. eine Zellprobe, wäscht das Sediment mit Alkohol und färbt nach Gram, so sind die Zellen zuerst ganz schwach violett gefärbt. Von Stunde zu Stunde nimmt aber dauernd die Stärke der Gram-Positivität zu.

Diese Beobachtung der langsamen Aufnahme der Lipoidsäure und verschieden großer Mengen von ihr durch die verschiedenen Zellen scheint

1) Bereits mitgeteilt in der Dezembersitzung 1925 d. Märk. Bezirksvereins deutscher Chemiker. S. Mitteilung des Vereins. 1926. Nr. 1.

mir für das Vorliegen einer chemischen Verbindung und nicht für eine einfache Adsorption zu sprechen, zumal die stark säurebegierigen Hefezellen die Lipoidsäure sogar ihrem alkoholischen Lösungsmittel entreißen. Naturgemäß bin ich weit entfernt davon, als erwiesen anzusehen, daß nun in den so behandelten Zellen dasjenige Lipoproteid wieder entstanden ist, das vorher in der Zelle zugegen war. Die Tatsache jedoch, daß es gelang, künstlich gramnegative Zellen durch eine Behandlung mit einer alkoholischen Lipidsäurelösung wieder grampositiv zu machen, dürfte beweisen, daß in diesen Zellen wieder eine Lipoproteid entstanden ist, nachdem in früheren Arbeiten¹⁾ der Nachweis geführt werden konnte, daß die Gram-Positivität auf dem Vorhandensein einer grampositiven Lipidsäure in den Zellen beruht. Die Tatsache, daß es mir mit einer einfachen Fettsäure-(Glyzerin)-Phosphorsäureverbindung, die keine organische Base enthielt, gelungen ist, auf künstlichem Wege gramnegativ gemachte Hefezellen wieder grampositiv zu machen, teilweise sogar durch Glycerinphosphorsäure, scheint mir in der Tat dafür zu sprechen, daß in den grampositiven Lipoproteiden der Hefe eine Fettsäure-(Glyzerin)-Phosphorsäure-Eiweißverbindung und nicht eine Fettsäure-(Glyzerin)-Phosphorsäure-Basen-Eiweißverbindung, also keine Verbindung eines echten Phosphatids mit Eiweiß vorliegt.

Zusammenfassung.

Durch Salzsäureätherhydrolyse (absolut von freien Lipoiden vorher befreiter Hefezellen) läßt sich das Karyonin-Lipidsäuregemisch der Hefe als braungelber Rückstand gewinnen. Durch ihre spielende Alkohollöslichkeit läßt sich hieraus die am Aufbau der grampositiven Lipoproteide beteiligte grampositive Lipidsäure gewinnen und dadurch von der schwerer in Alkohol löslichen Karyoninsäure trennen, die am Aufbau des Hefekerns beteiligt ist. Die grampositive Hefelipidsäure ist eine N-freie, phosphorsäurehaltige, ungesättigte Fettsäure, die mit dem basischen Eiweiß zu dem grampositiven Hefelipoproteid verbunden ist.

Während es weder mit freiem Lezithin oder anderen Lipoiden, auch nicht mit denjenigen aus der Hefe selbst stammenden gelingt, künstlich gramnegativ gemachte Zellen wieder künstlich grampositiv zu machen, gelingt die Synthese eines künstlichen Lipoproteids in den so vorbehandelten Zellen teilweise mit Glycerinphosphorsäure, vollständig in sämtlichen Zellen mit der alkoholischen Lösung der aus der Hefe isolierten grampositiven Lipidsäure.

Durch die Tatsache, daß es gelingt, mit Hilfe der HCl-Alkoholhydrolyse Hefezellen und Bakterien auf künstlichem Wege gramnegativ zu machen und den so behandelten Zellen ebenfalls auf künstlichem Wege mit Hilfe einer alkoholischen Lösung der vorher isolierten grampositiven Lipidsäure wieder ihre Gram-Positivität zu verleihen, dürfte die Ursache der Gramschen Färbung als restlos geklärt und alle übrigen Theorien hierüber als widerlegt gelten, einschließlich derjenigen zuletzt von Kalina (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 103. S. 172) gegebenen.

1) „Zur Chemie der Zellfärbung“ VI. Mitt. a. a. O.

Berichtigung.

In der Arbeit: Wolters u. Dehmel, Züchtung und Differenzierung der anaëroben Sporenbildner, Centralblatt f. Bakt. I. Abt. Originale. Bd. 108. S. 266 ist eine Verwechslung der Bildbezeichnung vorgekommen. Es muß heißen:

Fig. 3. Wuchsform IIa Pararauschbrand.

Fig. 4. Rauschbrandkolonien auf nicht genügend getrockneter Platte.

Inhalt.

- Anjow, Saburo**, Vergleichende Untersuchungen über die Widerstandsfähigkeit verschiedener Leptospiren (Spirochäten) gegen äußere Einflüsse, S. 61.
- Braun, H., u. Weil, A. J.**, Ueber den Ruhrbazillus Kruse-Sonne. Mit 5 Abbildungen im Text, S. 16.
- Fujitsuna, S.**, Ueber das Verhalten der Phagozytose immunogener Substanzen zu der durch sie herbeigeführten Immunität, unter besonderer Berücksichtigung des Koktoimmunogens, sowie über die immunologische Trias, S. 93.
- Groß, Hans**, Ueber den Einfluß parental gegebener Lipoide auf die Hämolysebildung bei Kaninchen, S. 8.
- Gutfeld, Fritz v., u. Pincussen, Ludwig**, Untersuchungen über die Wirkung des Lichtes auf Bakterien. Mit 12 Abbildungen im Text, S. 107.
- Haagen, E.**, Ueber das Verhalten des Variola-Vakzinevirus in der Gewebekultur, S. 31.
- Haupt, H.**, Ein Beitrag zur kulturellen Unterscheidung des Pfeifferschen Pseudotuberkulosebazillus von ähnlichen vogelpathogenen Bakterienarten (*Bact. avicidum* und *Bact. gallinarum*), S. 1.
- Ischimoto, Y.**, Ueber die Rolle der Lipide der Mikroben bei ihrer Phagozytose im Blutkreislaufe der Versuchstiere. II. Mitteilung: Einfluß gleichnamiger bzw. ungleichnamiger Lipide auf die Phagozytose der Staphylokokken im zirkulierenden Blute. Mit 6 Kurven im Text, S. 100.
- Kemkes, B.**, Plasmakoagulase und Pathogenität der Staphylokokken, S. 11.
- Kikuth, W.**, Ueber den Einfluß von Jensen-Sarkom auf die infektiöse Rattenanämie und ihre Erreger, S. 51.
- Kopp, R.**, Verbesserungen am Bunsen-Brenner für den Gebrauch in bakteriologischen Laboratorien. Mit 1 Abbildung im Text, S. 98.
- Küster, E., u. Koulen, K.**, Untersuchungen zur Amino-Stickstoffbestimmung mit Ninhydrin bei der Abderhalden-Reaktion und bei der Erforschung des Bakterienstoffwechsels, S. 135.
- Neumann, Franz**, Die Sichtbarmachung von Bakteriengeißeln am lebenden Objekt im Dunkelfeld. II. Mitteilung. Mit 20 Textfiguren und 159 Mikrophotogrammen auf 7 Tafeln, S. 143.
- Schmidt, W.**, Ein Beitrag zur experimentellen Erzeugung von Tiertumoren, S. 44.
- Schumacher, Josef**, Zur Gramschen Färbung. Ueber die chemische Zusammensetzung der Lipoidsäure und über künstlich grampositiv gemachte Hefezellen, S. 181.
- Seitz, A.**, Endokrine Drüsen und Abwehr. II. Mitteilung, S. 115.
- Shiozawa, Soiehi**, Immunologische Beziehung zwischen verschiedenen Leptospiren, S. 81.
- Uyeyama, Yoshiaki**, Ueber eine neue Art von *Hepaticola muris* n. sp. und deren Bedeutung für die Epithelwucherung. Mit 2 Tafeln, S. 55.
- Weyrauch, F.**, Kann durch Darreichung von Narkotica eine positive Wassermann-Reaktion oder Meinickes Trübungsreaktion im Serum vorgetäuscht oder zum Verschwinden gebracht werden? S. 129.
- Yakimoff, W. L., Belawine, W. S., und Rubkewitsch, S. F.**, Die Immunisation mit Hilfe von Bayer 205 (Naganol) gegen die Beschälseuche, S. 48.

Ausgegeben am 7. November 1928,

Nachdruck verboten.

Zeitliche Untersuchungen über den Ablauf übertragbarer Krankheiten I.—III. (Mäusetyphus.)

[Aus dem Laboratorium der Bayerischen Arbeitsgemeinschaft zur Förderung der Volksgesundheit (Med.-Rat Dr. G. Seiffert).]

Von Med.-Rat Dr. **G. Seiffert**, Tierarzt Dr. **A. Jahneke** und Tierarzt Dr. **A. Arnold**.

Mit 22 Abbildungen im Text.

I. Zweck, Bedeutung und Methodik zeitlicher Untersuchungen über den Verlauf übertragbarer Krankheiten (Seiffert).

Von den meisten übertragbaren Krankheiten des Menschen und der Haustiere kennt man im allgemeinen den normalen Krankheitsverlauf und seine Abweichungen klinisch recht gut. Erfahrungen und Beobachtungen von Jahrhunderten werden dauernd vermehrt und bereichert durch neue Kenntnisse, die man sich auf Grund fortschreitender Methodik, neuer oder verbesserter Untersuchungsmöglichkeiten, Beobachtungen der Krankheitsfälle unter besonderen Gesichtspunkten erwirbt. Immer eingehender ergänzt wird das klinische Bild des Krankheitsverlaufes durch pathologisch-anatomische Beobachtungen. Die Erfahrungen jeder Epidemie bringen neue Kenntnisse. Es erscheint daher beinahe müßig, sich die Frage zu stellen, hat es noch Zweck, über den Verlauf gut bekannter Infektionskrankheiten weitere Untersuchungen anzustellen. Trotzdem man über außerordentlich viele Einzelbeobachtungen des Krankheitsverlaufes bei übertragbaren Krankheiten verfügt, steht man doch noch vor vielen ungelösten Rätseln, die sich durch klinische und pathologisch-anatomische Beobachtung allein nicht beantworten lassen, zu denen noch experimentelle Beobachtungen über den normalen Krankheitsverlauf zu treten haben. Ueber den Verlauf einer Infektionskrankheit besitzt man vornehmlich Kenntnisse, soweit man unter dem Krankheitsverlauf die Zeit versteht, in der das Individuum auf eine Infektion mit äußerlich merkbaren Krankheitserscheinungen reagiert. Schlechter ist es schon mit dem Wissen über die allerersten, mehr persönlich empfundenen wie ärztlich feststellbaren Krankheitserscheinungen bestellt. Noch viel weniger weiß man über die Vorgänge, die sich im Körper im Anschluß an die Infektion während der Inkubationszeit abspielen. Ueber diese Vorgänge ist das Wissen noch recht lückenvoll, obwohl gerade die sich in dieser Zeit abspielenden Vorgänge über viele für das Wesen der Infektionskrankheit sehr wichtige Probleme Aufschluß geben dürften. Was während der eigentlichen Erkrankung vor sich geht, sind Äußerungen mehr oder minder vorgeschrittener Reaktionsprozesse auf die Erreger bzw. seine Gifte. Die Auslösung dieser Prozesse fällt aber zum großen Teil schon in die Zeit der Inkubation. Unsere Kenntnisse über den Krankheitsverlauf bei Infektionskrankheiten gleichen in manchem den geographischen Kenntnissen über die großen Ströme unbekannter Erdteile vor einem Jahrhundert. Man kannte den Verlauf des Flusses,

seine Einmündung in das Meer wohl, aber die Anfänge der Ströme, ihre Quellgebiete waren meist noch unerforscht oder kaum bekannt. Daß klinische Untersuchungen vornehmlich erst mit dem Krankheitsbeginn einsetzen, daß man pathologisch-anatomische Befunde erst bei einer mehr oder minder fortgeschrittenen Krankheit erhob — es sei denn, daß Zufallsbefunde durch anderweitige interkurrente Todesursachen ermöglicht wurden — ist naturgemäß. Beobachtungen in der Inkubationszeit sind klinisch häufiger gemacht worden, während die pathologisch-anatomischen Zufallsbefunde aus dem Inkubationsstadium viel seltener werden. In derartigen Fällen ist das pathologisch-anatomische Bild nicht immer rein und klar, da die eigentliche, mit der Infektion in keiner Weise im Zusammenhang stehende Todesursache auch Veränderungen erzeugte, die von den für die Inkubationszeit charakteristischen Befunden nicht immer scharf zu trennen sind. Zudem kommt, daß man bei vielen übertragbaren Krankheiten des Menschen durchaus nicht immer sicher ist, ob der Infektion auch regelmäßig eine Erkrankung und damit vorher auch eine Inkubationsperiode folgt.

Es mag vielleicht an dieser Stelle eine kleine Bemerkung eingeschoben werden, ob der Begriff der Infektion genügend eindeutig ist. Wenn man von einer Infektion mit einem Erreger spricht, setzt man im allgemeinen dabei voraus, daß die Folge der Infektion eine Erkrankung nach einer gewissen Inkubationszeit ist. Nun führt aber durchaus nicht jedes Zusammentreffen mit einem pathogenen Mikroorganismus — es ist hierbei nicht an künstliche Uebertragungen gedacht — zu einer Erkrankung. Es wäre vielleicht für eine eindeutigere Darstellung, für eine schnellere Uebereinkunft bei manchen epidemiologischen Fragen gut, wenn man den in dieser Richtung noch zu wenig exakt festgelegten Begriff der Infektion erweiterte oder genauer umgrenzte. Ein Eindringen von pathogenen Bakterien in den Körper unter Möglichkeiten, die zu einer Erkrankung führen können, sollte man allgemein nicht als Infektion, sondern vielleicht als Kontaktion bezeichnen. Die Bezeichnung „infectio“ sollte man nur für jene Fälle von „contactio“ anwenden, die nach einer gewissen Inkubationszeit zur Erkrankung führen. Man könnte bei den anderen Fällen einer „contactio“ noch solche unterscheiden, die erstens niemals zu einer Erkrankung führen und zweitens nach einer die übliche Inkubationszeit wesentlich überschreitenden Periode erst unter dem Einfluß irgendwelcher anderer auslösender Momente eine Erkrankung zur Folge haben. Ob man den gegen die Infektion weitergefaßten Begriff der Kontaktion nur streng auf pathogene Mikroorganismen ausdehnen oder auch für jede Berührung mit Mikroorganismen anwenden soll, ist hier wohl von geringerer Belanglosigkeit.

Die für den Krankheitsverlauf primär entscheidende Frage, warum wird aus einer Kontaktion eine Infektion oder nicht, ist in ihren Grundzügen keineswegs gelöst und lösbar, solange man nicht die Vorgänge während der Inkubationszeit genauer kennen lernt. Das, was man über Virulenz der Erreger, über Empfänglichkeit, über natürliche Immunität bislang zu wissen glaubt, ist im Grunde noch recht wenig, noch recht äußerlich und unsicher, da man meist das allererste Stadium des Kampfes zwischen Erreger und Angestecktem gegenüber dem Endergebnis der Erkrankung bei den diesbezüglichen Untersuchungen vernachlässigte. Die verschiedenartigen Versuche in vitro können Fingerzeige geben; zu einer Lösung oder Klärung der sich abspielenden Vorgänge werden aber wohl nur Versuche in corpore führen. Die Erklärung hierfür ist vornehmlich in den Schwierigkeiten der Untersuchung, in Unvollkommenheiten der Methodik zu suchen. Es wäre falsch, zu behaupten, es lägen in dieser Frage keine wesentlichen Beobachtungen vor, im Gegenteil finden sich so zahlreiche Einzelbeobachtungen verschiedener Art in der Literatur weit zerstreut,

daß es gar nicht versucht wurde, hierauf näher einzugehen. Größere systematische Untersuchungen, die bewußt nach gewissen Gesetzmäßigkeiten suchten, wurden aber bisher kaum angestellt.

Daß derartige Untersuchungen beim Menschen in wirklich erschöpfendem Umfange nicht möglich sind, ist klar. Nach gewissen Richtungen sind sie durchführbar; es ist z. B. an serologische, physiologisch-chemische und andere Untersuchungen zu denken. Organveränderungen in der Inkubationszeit, deren feine Natur sich nur unter dem Mikroskop erschließt, könnten nur an Sektionsmaterial studiert werden, dessen Beschaffung von größten Zufälligkeiten abhängt. Sichere Unterlagen für Einzelfragen lassen sich nur aus größeren Serienversuchen gewinnen, die beim Menschen fast unmöglich sind. Man wird daher am Menschen den Verlauf einer Infektionskrankheit in toto vom Moment der Infektion ab lückenlos bis in tiefere Einzelheiten kaum systematisch studieren können. Derartige Versuche wird man vorerst an Tieren zu machen haben. Man muß neben einer ausgedehnten klinischen Untersuchung Sektionsbilder in bestimmten, nicht zu großen Intervallen bekommen, muß also zahlreiche Tiere zum Abtöten zur Verfügung haben. Hierdurch werden derartige Untersuchungen bei den übertragbaren Krankheiten größerer Haustiere erschwert, in erster Linie, da ihre Kosten kaum aufbringbar sind.

Untersuchungen bei Laboratoriumstieren werden sich auch sehr einschränken, da Untersuchungen mit künstlichen, dem normalen Infektionsgang nicht entsprechenden Infektionen kaum ein sicheres Bild geben können, aus dem entsprechende Schlüsse für den normalen Krankheitsverlauf in seinen Anfängen gezogen werden können. Wenn heute von einer Pathogenität der Krankheitserreger für Versuchstiere gesprochen wird, so herrscht auch hier eine gewisse Ungenauigkeit in der Auffassung des Begriffes Pathogenität. Wenn man einen Cholerastamm, der bei intraperitonealer Einverleibung ein Meerschweinchen tötet, als meerschweinchenpathogen bezeichnet, so ist dies richtig und doch wieder falsch. Er ist zweifelsohne meerschweinchenpathogen, aber mit dem Vorbehalt: bei intraperitonealer Infektion. Wenn man aber, um bei dem Beispiel der Cholera zu bleiben, an den etwa für die Klinik und die Seuchenbekämpfung üblichen Gebrauch des Begriffes Pathogenität denkt, so will man dabei verstehen, daß ein Erreger unter den normalen Bedingungen der Natur, nicht des Laboratoriums, infektiös ist, daß also z. B. der Cholera-vibrio normal nur per os eine Infektion setzt. Man muß daher scharf trennen zwischen einer natürlichen und einer künstlichen Pathogenität. Danach wäre der Cholera-vibrio für das Meerschweinchen natürlich apathogen, künstlich (aber auch hier wieder nur unter bestimmten Bedingungen) pathogen. Das Studium der bei künstlicher Pathogenität sich abspielenden Vorgänge hat wertvollste Hinweise für die Vorgänge bei natürlicher Pathogenität geliefert und indirekt dieses Wissen außerordentlich gefördert. Es hat aber die Gefahr in sich, daß es nie mit Sicherheit den Schluß auf natürliche Verhältnisse erlaubt, es bringt eben nur das Ergebnis eines Versuches unter ganz bestimmten künstlichen Bedingungen. Man ist immer unsicher, ob und inwieweit man die Vorgänge der künstlichen Pathogenität der natürlichen gleichsetzen darf. Hier ist manchmal gefehlt worden. Die Ergebnisse der Versuche, denen eine künstliche Pathogenität zugrunde liegt, sind in ihrer Verallgemeinerung oft überschätzt worden. Als bedauerliche Folge wurde das Studium der künstlichen Pathogenität im Laboratorium zu sehr in den Vordergrund gestellt, die schwerer beobachtbaren Vorgänge der natürlichen Pathogenität wurden dagegen etwas vernachlässigt. Die Arbeiten über künstliche Pathogenität haben eine fast unübersehbare Fülle von Kenntnissen gebracht, die aber erst dann wirklichen, allgemein verwendbaren Wert haben, wenn sie zu natürlichen Pathogenitäts-

vorgängen in richtige Beziehung gebracht werden können. Die Arbeiten in der Richtung der künstlichen Pathogenität sind unentbehrlich, sie können aber leicht in Künsteleien ausarten, für die auch Leben und Gesundheit der Laboratoriumstiere zu schade sind. Wenn heute die Forschung auf dem Gebiete der Infektionskrankheiten trotz ihrer zahlreichen Arbeiten nicht recht vorwärts will, so ist es nicht die Erschöpfung des Stoffes — die grundlegenden Fragen harren noch fast alle einer befriedigenden Antwort — sondern vielleicht eine zu große Neigung zu Laboratoriumsuntersuchungen in der Richtung der künstlichen Pathogenität. Wenn das Laboratorium dazu kommt, die Vorgänge bei übertragbaren Krankheiten immer mehr im Sinne der natürlichen Pathogenität zu studieren, werden sicherlich auch wieder neue Fortschritte kommen.

Die Versuchsmöglichkeiten werden sich damit für das Laboratorium freilich ganz wesentlich einschränken. Die Einschränkung wird zunächst nicht zu bedauern sein, da sie eine wesentliche Vertiefung in die Probleme bedingen kann. Man ist heute noch nicht in der Lage, durch irgendwelche Eingriffe einen beliebigen Erreger unter natürlichen Bedingungen etwa für Laboratoriumstiere pathogen zu machen. Man muß sich daher auf jene wenigen, geeigneten Erreger beschränken, die die Natur bietet. Ihre Zahl ist, soweit sie für das Laboratorium anwendbar sind, nicht sehr groß. Immerhin sind so viele vorhanden, daß sie viel mehr, als es bislang üblich war, hätten Anwendung finden können, um über das Problem der übertragbaren Krankheiten unter natürlichen Bedingungen Klarheit zu verschaffen. Zu den in dieser Richtung geeignetsten Krankheitserregern dürften die Mäusetyphusbazillen gehören, die neuerdings in immer steigendem Umfange zur Erforschung epidemiologischer Fragen, zum Studium der Schutzimpfung usw. herangezogen werden. Bei diesen Untersuchungen kam es in erster Linie darauf an, erkrankt und stirbt ein Tier nach einer den natürlichen Bedingungen möglichst nahekommenden Infektion mit einem virulenten Stamm. Dem Mechanismus des Infektionsverlaufes wurde bei diesen Arbeiten weniger Beachtung geschenkt, es sei denn vielleicht die Verbreitung der Bakterien nach der Infektion (z. B. B. Lange und Yoshioka, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 101 u. 102; W. Seifert, Centralbl. f. Bakt. Bd. 104. Beiheft) im Körper, Aenderung der bakteriologischen Stuhlflora usw. Ueber den Mechanismus des Infektions- und Krankheitsverlaufes werden von mir seit 1910 Untersuchungen angestellt, die aus äußeren Gründen für viele Jahre unterbrochen wurden, ohne daß die vorläufigen Ergebnisse veröffentlicht werden konnten. Die nunmehr wieder aufgenommenen und weiter geführten Untersuchungen sollen in einer Anzahl Arbeiten veröffentlicht werden, von denen zunächst die zwei folgenden sich vornehmlich mit den gröberen, histologisch feststellbaren Veränderungen des Krankheitsverlaufes bei Mäusetyphus beschäftigen, da deren genaue Festlegung für die weitere Arbeit unumgänglich notwendig ist.

II. Pathologisch-anatomische Veränderungen bei Mäusetyphus (Jahneke).

In den vorliegenden Veröffentlichungen über Mäusetyphus finden sich nur vereinzelt und andeutungsweise Mitteilungen über den pathologisch-anatomischen Befund an Mäusetyphus gestorbener Mäuse. Die pathologisch-histologischen Veränderungen wurden systematisch kaum näher bearbeitet. Loeffler (Centralbl. f. Bakt. Bd. 11. 1892. Nr. 5) beschreibt sie kurz, aber immer nur unter Voranstellung des bakteriologischen Befundes, wobei er vor-

nehmlich an Schnitten die Anwesenheit und Verteilung von Bakterien in den Organen feststellte. Ähnliche Mitteilungen finden sich bei Bongert (Kolle-Wassermann, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. Bd. 6. S. 189). Die eigenen Untersuchungen bezweckten, die pathologisch-histologischen Veränderungen unter Berücksichtigung des mikroskopischen Befundes und der klinischen Erscheinungen während des Krankheitsverlaufes zeitlich und systematisch eingehender zu untersuchen.

Zu diesem Zwecke wurde eine Reihe von weißen Mäusen gleichzeitig mit einem mäßig virulenten Stamm des Loefflerschen Mäusetyphusbazillus durch Fütterung infiziert. Von den infizierten Mäusen wurde bis zum Tode der letzten täglich eine Maus getötet und eingehend histologisch untersucht. Die Ergebnisse dieser täglichen Befunde sind in vorliegender Arbeit zusammengestellt. Eingehend wurden besonders bei den Organen, die auffallend starke Veränderungen zeigten (Darm, Milz und Leber), die histologischen Veränderungen untersucht. Nach Vorversuchen mit dem benutzten Stamm war die Krankheitsdauer nicht konstant. Sie schwankte zwischen 12 und 25 Tagen. Mit Absicht wurde ein stark abgeschwächter Stamm benutzt gegenüber den üblichen für die Bekämpfung der Mäuseplage verwandten, die in etwa 3 bis 5 Tagen nach der Infektion töten. Es war zu erwarten, daß bei längerer Krankheitsdauer das pathologische Bild in seinen Einzelheiten klarer und langsamer zur Entwicklung kam. Um durch eine geringe Virulenzsteigerung die Intervalle bis zum Eintritt des Todes möglichst gleichmäßig zu gestalten, wurde vor dem entscheidenden Versuch aus dem Herzblut einer verendeten Maus ein neuer Stamm auf Agar herangezüchtet. Bei den mit ihm infizierten Mäusen war die Krankheitsdauer etwas verkürzt und gleichmäßiger; die Zeit betrug 11–14 Tage. Wenn auch für die histologische Untersuchung ein recht langsamer Verlauf wünschenswert wäre, um ein möglichst einheitliches histologisches Bild zu erreichen, so erschwert doch eine zu lange, aber dabei auch zu ungleichmäßige Krankheitsdauer die praktische Durchführung der Versuche sehr. Es wurde daher für die Versuche der Nachteil einer gewissen Verkürzung der Krankheitsdauer in Kauf genommen.

Zur Infektion wurde die frisch aus dem Herzblut gezüchtete Agarkultur auf Bouillon überimpft. Nach etwa 15 Std. Wachstum wurden mit der Bouillon Brotstücke getränkt und an Mäuse verfüttert. Zweckmäßig läßt man die Versuchstiere vorher etwas hungern, damit sie alle gleichmäßig fressen und sofort größere Mengen von Bakterien aufnehmen. Hiermit ist Gleichzeitigkeit und Sicherheit der Infektion gesichert. Sondenfütterungen, die den Vorteil der Zufuhr gleicher und abstufbarer Bakterienmengen hatten, wurden zunächst nicht gemacht, einmal, um die Infektion nicht irgendwie unnatürlich zu gestalten und zweitens, um nie ganz ausgeschlossene Verletzungen, die ihrerseits das Bild ändern könnten, zu vermeiden. Täglich wurden je zwei Mäuse getötet. Bis zum 15. Tage nach der Infektion war eine regelmäßige Untersuchung möglich. Verstorbene Tiere wurden nicht verwandt. Insgesamt kamen 26 Mäuse zur genaueren Untersuchung. Ein Teil fiel wegen wechselnder Krankheitsdauer durch vorzeitigen Tod für die Versuche aus. Für die wechselnde Krankheitsdauer, die man bei schwachen, virulenten Stämmen experimentell durchaus nicht sicher in der Hand hat oder voraussagen kann, dürften vor allem konstitutionelle Unterschiede entscheidend sein; auch das Alter der Tiere spielt eine Rolle. Bei dieser Versuchsanordnung dürfte die Menge der aufgenommenen Bazillen weniger in Betracht kommen. Es wurden nur ausgewachsene Mäuse benutzt, die freilich im Alter verschieden waren.

Die Tötung der Mäuse geschah mit Chloroform. Es wurde sofort eine eingehende Sektion angestellt und die für histologische Zwecke benötigten Organe

in 8proz. Formalin eingelegt. Außerdem wurden von den Organen Ausstriche auf Deckgläser gemacht.

Es mögen zunächst einige Bemerkungen über die klinischen Erscheinungen des Mäusetypus eingeschoben werden. Ueber sie finden sich verschiedene Angaben in der Literatur. Loeffler beobachtete in Thessalien, wie die kranken Feldmäuse auf einer Stelle ruhig dasaßen oder langsam kriechend sich fortbewegten. Eingehender berichtet Zingle (Inaug.-Diss. Leipzig 1911) über das Verhalten der Mäuse bei der Paratyphusinfektion; mit seinen Beobachtungen stimmen die eigenen, beim Mäusetypus erhobenen Befunde größtenteils überein. Schern (Arbeit aus dem Reichs-Gesundheitsamt. Bd. 30. 1909. Heft 3) erwähnt bei einer durch ein der Paratyphusgruppe angehöriges Stäbchen verursachten Rattenseuche Appetitmangel und schnelle Abmagerung; die Tiere sitzen apathisch mit gesträubten Haaren und gekrümmtem Rücken in einem Winkel des Käfigs.

Bei den eigenen Versuchen blieben die Tiere mehrere Tage nach der Infektion ganz munter; nach 3—6 Tagen — je nach dem jeweiligen Eintritt des Todes verschieden — zeigten sie ein anderes Benehmen. Sie spielten nicht mehr, sondern saßen meist still zusammengekauert in einer Ecke des Käfigs. Ihr Rücken war gekrümmt, die Haare gesträubt und der Kopf gegen den Bauch gezogen. Es machte den Eindruck, als ob die Tiere von Leibschmerzen gequält wären. Mit dem veränderten Benehmen ließ der Appetit nach; ganz hörte er freilich niemals auf, bis zum Todeskampfe schleppten sich die schwerkranken Tiere zum Freßnapf. Wenige Tage vor dem Tode trat gewöhnlich eine Verklebung der Augenlider ein. Die Atmung schien beschleunigt. Der Kot blieb anfangs gleich, er wurde später etwas weicher und heller; Durchfall wurde nicht beobachtet. Auffallend war, daß einige Mäuse wenige Stunden vor dem Tode plötzlich im Behälter erregt hin und herliefen, Sprünge bis an den Deckel des Käfigs machten, um dann wieder still abseits von den Genossen sitzen zu bleiben, in Schlaf zu versinken, dem der Tod gewöhnlich in 1—2 Std. folgte.

Bei größeren Tieren und dem Menschen wird das Verhalten der Körpertemperatur als ein Hauptsymptom einer Infektionskrankheit gewertet. In größerem Umfange sind früher von G. Seiffert unveröffentlichte Temperaturmessungen an mit Mäusetypus infizierten Mäusen vorgenommen worden, die sich in ihren Ergebnissen durchaus mit den neuerdings von Knorr (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 99) mitgeteilten Befunden decken. Die Messungen wurden mit eigens zu diesem Zwecke konstruierten kleinen Thermometern ausgeführt, die nach Einfetten bei einiger Uebung leicht in den Anus der Tiere eingeführt werden können. Nach diesen Untersuchungen schwankt die normale Temperatur bei Mäusen außerordentlich zwischen 35,5—38,0°. Morgen- und Abendtemperatur weisen ähnlich große Unterschiede auf; im allgemeinen ist die Abendtemperatur etwas höher. Die Temperatur bewegte sich während der Krankheit (nach stomachaler Infektion) ebenfalls nur in den als normal anzusprechenden Temperaturgrenzen. Von irgendwelcher typischen Fieberkurve kann nicht gesprochen werden. Vor dem Tode macht sich öfter ein Ansteigen der Temperatur bemerkbar, die aber dann meist wenige Stunden vor dem Tode wieder stark sinkt. Temperaturmessungen sind daher für den Krankheitsverlauf des Mäusetypus nicht verwertbar.

Ueber die Sektionsbefunde bei Mäusetypus finden sich in der Literatur zahlreiche Einzelangaben, auf die bei Beschreibung der einzelnen Organe näher einzugehen ist. Besonders ist auf die Dissertation Zingles (Leipzig 1911) hinzuweisen, die bei mit einem nicht näher charakterisierten Paratyphus B-Stamm infizierten Mäusen systematisch, wie in vorliegender Arbeit, die Sektions-

befunde angegeben hat. Im wesentlichen ergibt sich bei dem dort verwandten Stamm, wie hier bei Mäusetyphus, das gleiche Bild. Bei Eröffnung zeigt sich als auffälligste Erscheinung eine Blutfülle des gesamten Körpers. Sämtliche Blutgefäße sind stark injiziert; die Größenzunahme der Organe ist gleichfalls hierauf zurückzuführen. Die Injektion der Blutgefäße scheint bei den mehr chronischen Fällen schwächer zu werden.

Die äußere Haut zeigt bis zum Tode des Tieres eine gleichmäßige grauweiße Färbung. Auffällig ist schon am 1. Tage nach der Infektion eine mit der Zeit stärker werdende Injektion der Subcutis. Die Kniefalten-, Achsel- und Kehlgangsymphdrüsen weisen zu Anfang keine mikroskopischen Veränderungen auf; sie sind von grauweißer Farbe und platter Linsenform. Nach wenigen Tagen aber zeigt ihre Schwellung die Ausbreitung der Infektion an. Sie tritt besonders auffällig in Erscheinung in ihrer Verbindung mit starker kapillärer Injizierung, die sich auf die weitere Umgebung der Lymphdrüsen ausbreitet.

Die Körpermuskulatur bleibt während des ganzen Krankheitsverlaufes frei von irgendwelchen sinnfälligen Veränderungen. Der Unterleib zeigt im Verlauf der Krankheit infolge Vergrößerung der Organe eine starke Umfangszunahme. Die Leber tritt weit über den Rand des Brustkorbes hervor, die Milz reicht als breiter dunkler Streifen an der linken Körperseite bis zum Becken. Das Bauchfell ist glänzend und durchsichtig. In der Bauchhöhle ist keine besondere Flüssigkeitsansammlung festzustellen. Die Beobachtung Loefflers, der hin und wieder eine Maus gefunden hat, die frisches Blut im freien Raum der Bauchhöhle enthielt, ohne daß die Quelle der Blutung aufgefunden werden konnte, konnte nicht bestätigt werden. Die nähere Beschreibung von Darm, Milz und Leber erfolgt später im Zusammenhang mit den histologischen Befunden.

Die Nieren zeigen eine bis zum Tode gleichbleibende schwache Vergrößerung, die wohl allein auf einer Hyperämie beruht, auf welche schon makroskopisch die lebhaft rote Farbe des Organs schließen läßt. Das mikroskopische Bild zeigt gleichfalls als Hauptmerkmal eine Hyperämie. In den Blutgefäßlumina befinden sich in vermehrter Anzahl Leukozyten; inwieweit eine Auswanderung derselben ins Gewebe stattfindet, ist schwer zu erkennen. Das Parenchym zeigt nur im fortgeschrittenen Stadium eine meist wenig ausgesprochene Degeneration. Einigemale wurde das Bild einer Stauungsniere gefunden, die Harnkanälchen zeigten eine auffallende Erweiterung.

Die Nebennieren nehmen im Verlauf der Infektion nur wenig an Größe zu. Ihre natürliche weißgelbe Farbe geht in eine rötliche über. Mikroskopisch ist außer einer Hyperämie kein pathologischer Befund zu erheben. Die Eröffnung der Brusthöhle zeigt das Brustfell frei von sinnfälligen Veränderungen. Am Herzen sind makroskopisch wie auch mikroskopisch Veränderungen nicht festzustellen. Eine Degeneration der Muskelzellen war nirgends zu erkennen, ebensowenig irgendwelche Zellproliferationen.

Ueber die Lungen sagt Loeffler, daß sie teils normal seien, teils rostfleckig. Dieser Befund größerer oder kleinerer Hämorrhagien konnte fast in allen Fällen bestätigt werden. In den Gefäßen der Lunge finden sich wie bei der Niere Leukozytenansammlungen; eine Auswanderung von Leukozyten in das Gewebe ist in größerem Umfange nicht zu erkennen. Bei einigen Tieren fand sich ein Emphysem, bei anderen waren die Alveolen schlaff und aneinandergedrängt. Sonstige pathologische Erscheinungen waren nicht zu finden. Die Erkrankung der Lungen wie der Nieren ist bei Mäusetyphus von untergeordneter Bedeutung. Die Hauptveränderungen weisen Darm, Milz und Leber auf.

Veränderungen am Darm und seinem lymphatischen Apparat.

Die pathologischen Veränderungen des Darmes lassen sich trennen in Veränderungen an der Schleimhaut des Darmes und am lymphatischen Apparat des Darmes, den Solitärknötchen und Peyerschen Haufen. Eigene kulturelle Versuche über die Verbreitung der Bakterien wurden nicht gemacht, da hierzu schon entsprechende Untersuchungen von verschiedenen Seiten vorlagen. Nach den Versuchen von Lange, Yoshioka und Zingle, die sich mit entsprechenden unveröffentlichten Untersuchungen G. Seifferts durchaus decken, gelangen per os eingeführte Keime lebensfähig in den Darm und verschwinden, falls das Tier an der Infektion verendet, bis zum Tode des Tieres aus diesem nicht mehr. In vielen Fällen sind sie aber in den ersten Tagen nicht mehr nachweisbar, in größerer Menge erscheinen sie erst im Darm, hauptsächlich im Dickdarm, nachdem die Blutinfektion eingetreten ist.

Der Blutinfektion, die bald früher, bald später eintritt, je nach der Schwere der Infektion, geht das Befallensein der mesenterialen Lymphdrüsen voraus; jedenfalls konnten genannte Autoren Mäusetyphusbazillen in den Mesenterialdrüsen zu einer Zeit nachweisen, als Blut und Milz noch steril befunden wurden.

Dafür, daß die Halsdrüsen als Eingangspforte in Betracht kommen, konnten keine Anhaltspunkte gewonnen werden. Die Infektion lokalisiert sich zunächst nur im lymphatischen System; erst wenn die natürlichen Schutzkräfte des Körpers nicht mehr ausreichen, die Infektion auf das lymphatische System zu beschränken, erfolgt der Uebertritt von Keimen in die Blutbahn. Mit dem Moment der Blutinfektion werden die Tiere sichtbar krank. Mit Eintritt der generellen Blutinfektion findet eine Rückwanderung der Keime in den Darm statt.

Den Ergebnissen der bakteriologischen Untersuchung entsprechen die pathologischen Veränderungen. Sie treten am Darm erst nach der Blutinfektion stärker in Erscheinung zu einer Zeit, wo auch in Blut, Milz und Leber Bakterien nachzuweisen sind.

Die pathologischen Veränderungen des Darmes in den ersten Tagen nach der Infektion, vor der allgemeinen Blutinfektion, sind die eines geringen Katarrhs. Schon bei der Sektion fällt eine Injektion der Schleimhautkapillaren auf, die Darmschleimhaut ist etwas geschwollen. Sämtliche Darmgefäße sind stark injiziert; der Inhalt des Dünndarmes ist wohl infolge einer stärkeren Sekretion dünnflüssiger, während im Dickdarm sich gutgeformte und normal gefärbte Kotballen vorfinden.

Der lymphatische Apparat des Darmes ist stärker in Mitleidenschaft gezogen. Die Darmlymphknoten, Solitärfollikel und Peyerschen Haufen sind schon am ersten Tage nach der Infektion stark vergrößert. Sie bilden runde bzw. längliche, stark umschriebene Erhabenheiten von rötlicher Farbe. Mit ihrer Vergrößerung geht auch die Schwellung der mesenterialen Lymphdrüsen parallel.

Die pathologischen Veränderungen nach der Blutinfektion äußern sich in hochakuten Fällen in einer starken Enteritis catarrhalis; in mehr chronischen Fällen tritt die Enteritis zurück gegenüber den Veränderungen an den Lymphknötchen, die zur Geschwürbildung im Darm führen.

Die Rötung und Schwellung der Darmschleimhaut nimmt zu, die Sekretion der Darmschleimhaut ist stark vermehrt, so daß die Mucosa teilweise mit reichlich Schleim belegt ist. Der Inhalt des Dünndarmes ist dünnflüssig schleimig, der des Duodenums weiß, gelb, manchmal wohl auch infolge stattgehabter Hämorrhagien rötlich. Im weiteren Teil des Dünndarmes überwiegt infolge

der Gallenfarbstoffe ein grüner Farbton. Im Rectum sind immer Kotpfropfe vorhanden, die nur eine hellere Farbe und eine weichere Konsistenz zeigen.

Die Angaben in der Literatur stimmen mit diesen pathologisch-anatomischen Befunden überein. Es wurde überall Schwellung und Rötung der Darmschleimhaut festgestellt und eine starke Vergrößerung der Darmlymphknötchen.

Im histologischen Bild zeigt sich die Enteritis catarrhalis in einer starken Injektion der Schleimhautkapillaren, Abschürfung der Epithelien und einer kleinzelligen Infiltration der Schleimhaut, die sich durch Auftreten von meist polymorphkernigen Leukozyten und Histiozyten kund tut. Die Histiozyten, Zellen mit nicht zu großen, meist bohnenförmigen Kernen und sehr viel Protoplasma, treten auffallenderweise in großen Mengen auf.

Die Veränderungen am follikulären Apparat legen Vergleiche mit dem menschlichen Typhus nahe. Die anfangs rötlichen, später weißgelben Darmlymphknötchen zeigen schon früh eine starke Schwellung, die in mehr chronischen Fällen später nachläßt. Es setzt in den ersten Tagen nach der Infektion eine Hyperplasie der Lymphzellen ein. Im fortschreitenden Verlauf der Infektion ist eine Infiltration mit fremden Zellen wahrnehmbar. Die mikroskopischen Präparate ergaben mannigfache Bilder, einmal überaus stark vergrößerte Lymphknötchen mit vielen fremden Zellen, über denen die Darmschleimhaut noch glatt und unverändert erhalten ist, dann Lymphknötchen, die mit einer Spitze kegelförmig ins Darmlumen vorragen. Das Epithel fehlt an dieser Vorwölbung. Der Lymphknoten steht in unmittelbarer Verbindung mit dem Darmlumen. In anderen Schnitten ist das Epithel in größerer Ausdehnung über dem Lymphknötchen verschwunden. Die Zellen der Knötchen haben sich zum größten Teil in das Darmlumen ergossen.

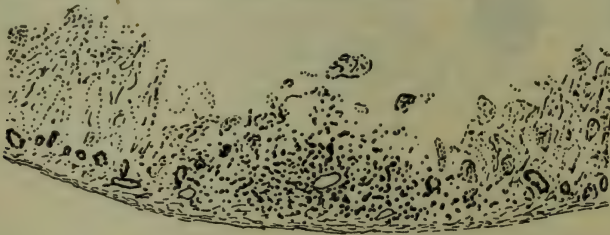


Fig. 1. Beginnende Geschwürsbildung.

Anderwärts ist an Stelle der Lymphknötchen nur eine Mulde zu sehen, deren Ränder durch die Schleimhaut gebildet wird. Der Vorgang entspricht durchaus einer Geschwürsbildung. Weiter fortschreitende Bilder konnten

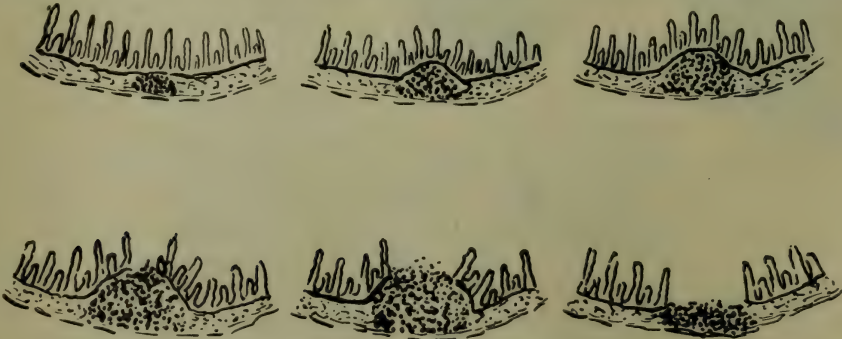


Fig. 2. Schematische Darstellung einer Geschwürsbildung.

nicht gefunden werden. Eine Nekrose mit eingehender Verschorfung wurde nicht beobachtet. Ein Geschwür entwickelte sich nur aus den Lymphknoten, nirgends wurde ein ähnlicher Vorgang in der freien Schleimhaut gesehen. Im Verlaufe der Krankheit lassen sich die einzelnen Entwicklungsstadien derartigen Geschwüre gut verfolgen. Fig. 2 gibt sie schematisch wieder.

Die fremden Zellen, die in einem Lymphknötchen auftreten, sind Leukozyten und Histiozyten, letztere in so großer Menge, daß sie später im Geschwür die Lymphozyten fast völlig zurückgedrängt haben und die Hauptmasse bilden, während die Leukozyten sich mehr auf die infiltrierte Umgebung beschränken.

Ein den Darmlymphknötchen in der zelligen Zusammensetzung gleiches Bild bieten die mesenterialen Lymphdrüsen. Auch bei ihnen finden sich neben den vorhandenen Lymphozyten Leukozyten und Histiozyten. In den mikroskopischen Schnitten lassen sich die Bakterien schon in ersten Tagen in Haufen nachweisen. Die Schwellung der mesenterialen Lymphdrüsen schreitet allmählich fort bis zu ganz außerordentlichem Umfang.

Veränderungen der Milz.

Regelmäßig tritt eine Milzschwellung auf bis zum 3—4fachen Volumen einer normalen Milz.



Fig. 3. Größe der Milz, normal, 5 und 14 Tage nach der Infektion.

Die geschwollene Milz reicht in ihrer Länge oft bis in das Becken herein; ihre Farbe ist dunkelrot, ihre Kapsel ist stark gespannt, ihre Konsistenz ist derb. Beim Anschneiden der Milz quillt die Pulpa hervor, so daß die Follikel mehr oder weniger verdeckt sein können. In den ersten Tagen nach der Infektion zeigen die Milzknötchen eine Vergrößerung des Umfanges. Die starke Größenzunahme ist schon von Loeffler (Centralbl. f. Bakt. Bd. 11. 1892. Nr. 5) und Zingle (Dissertation, Leipzig 1911) beschrieben.

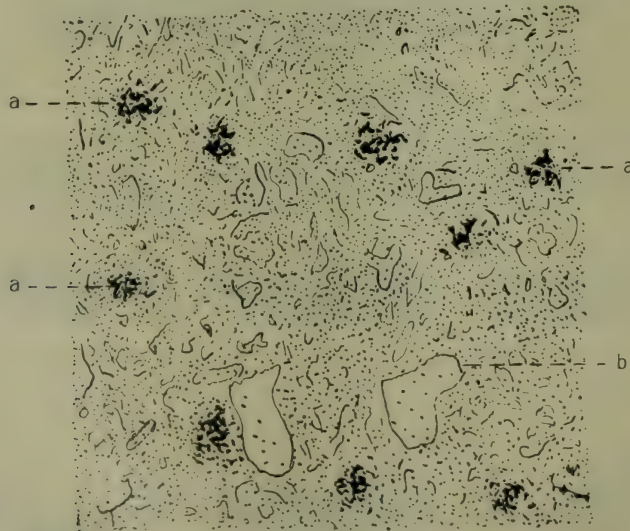


Fig. 4. Milz bei schwacher Vergrößerung, Endstadium, a Follikel, b Pulpa mit stark erweiterten Gefäßen.

Das mikroskopische Bild der Milz zeigt eine große Ausdehnung der Pulpa, die Follikel treten mehr oder weniger zurück. Die Venen und Kapillaren der Pulpa sind stark hyperämisiert, die Zellen reichlich vermehrt.

Vornehmlich sind die sogenannten Pulpazellen vermehrt, große Zellen mit relativ viel Protoplasma und einem oder mehreren Kernen. Sie schließen vielfach Erythrozyten oder Pigment in sich ein; mitunter enthalten sie auch Leukozyten. Der Abbau der Erythrozyten scheint gegen das Normale stark vermehrt. Die Endothelien der Venensinusus erwecken den Eindruck, als ob sie vermehrt oder erheblich angeschwollen seien. In der Pulpa finden sich neben Lymphozyten Leukozyten in gegen das Normale vermehrter Zahl.

Inwieweit in den Keimzentren der Follikel eine verstärkte Vermehrung der Leukozyten vor sich geht, ist nicht zu erkennen. Anzunehmen ist aber, daß vor allem in den ersten Tagen nach der Infektion eine Vermehrung stattfindet, worauf die anfänglich schon makroskopisch auffallende Größenzunahme der Knötchen schließen läßt. Bakterien lassen sich mikroskopisch vom 4. Tage nach der Infektion in der Milz nachweisen. Späterhin liegen sie, wie auch Bongert (Handbuch der pathogenen Mikroorganismen, Bd. 6. S. 189) erwähnt, mitunter in Haufen zusammen und sind zum Teil in Leukozyten eingeschlossen.

Die starke Schwellung der Milz beruht auf einer kongestiven Hyperämie und einer Hyperplasie der Pulpaelemente, zum Teil auch der Follikel.

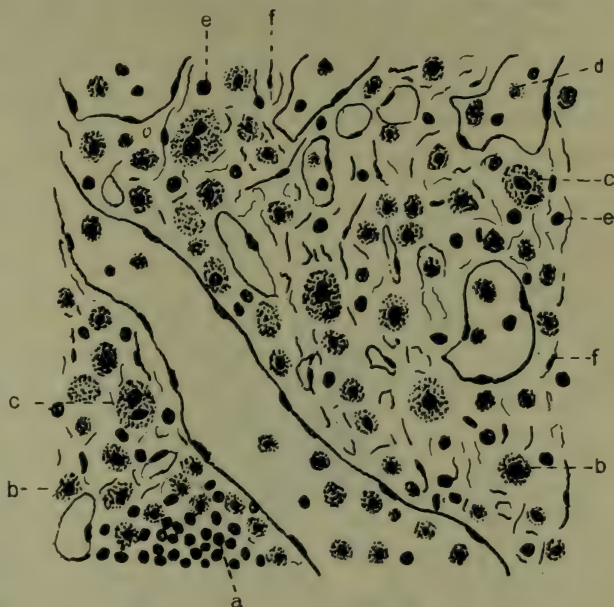


Fig. 5. Milz bei starker Vergrößerung, Endstadium. *a* Follikel, *b* einkernige, *c* mehrkernige Pulpazellen, *d* Leukozyten, *e* Lymphozyten in der Pulpa, *f* Gefäßendothelien.

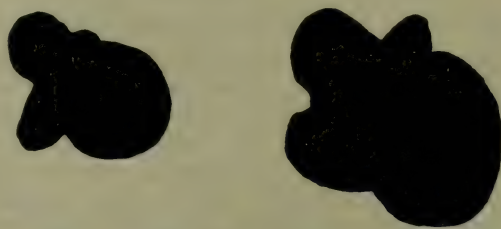


Fig. 6. Größe der Leber normal und 14 Tage nach der Infektion.

Veränderungen der Leber.

Auch die Leber zeigt eine außerordentliche Vergrößerung, die schon am ersten Tage nach der Infektion wahrzunehmen ist und an den folgenden dauernd und beträchtlich zunimmt.

Ihre Farbe ist verschieden. Während sie in den ersten Tagen durch die stark vermehrte Blutzufuhr, die auch die anfängliche schon einen Tag nach der Infektion auffallende Umfangszunahme bedingt, rot ist, überwiegt oft später, 7—9 Tage nach der Infektion, ein gelber Farbton. Die Leber einer Maus

bot die typische Färbung einer sogenannten Fettleber. 5 Tage nach der Infektion wurden makroskopisch vereinzelte, kleine stecknadelkopfgroße, gelbe Punkte beobachtet, die sich jeden folgenden Tag vermehrten. Ueber diese Pünktchen, die sich bei mikroskopischer Untersuchung als nekrotische Herde erwiesen und die sich bekanntlich auch bei anderen akuten Infektionskrankheiten finden (Typhus- und Paratyphuserkrankungen des Menschen, Pseudotuberkulose), sind in der Literatur mannigfache Angaben vorhanden.

Gärtner (Breslauer ärztl. Zeitung, 1888) beschreibt bei mit *Bac. ent.* infizierten und eingegangenen Versuchstieren nekrotische Herde in den parenchymatösen Organen, welche denen der Pseudotuberkulose ähneln. Trautmann (Ztschr. f. Hyg. Bd. 54) beobachtete sie bei einer durch ein Bakterium vom Typus des *Bac. ent. G.* verursachten Rattenseuche; in chronischen Fällen waren manchmal feine graue Herdchen in der Leber zu bemerken.

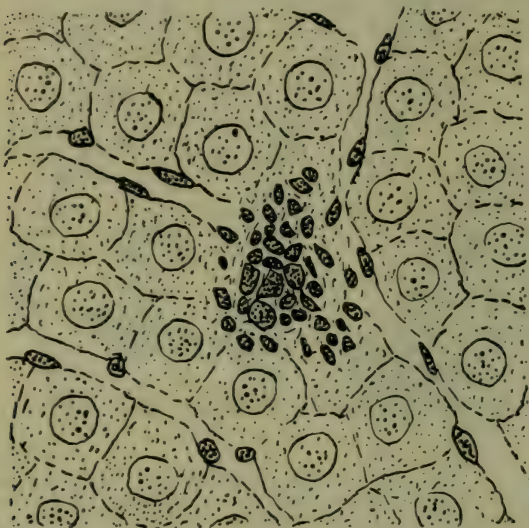


Fig. 7. Knötchenbildung in der Leber, zweiter Tag nach der Infektion.

Bei einer durch ein der Paratyphusgruppe angehöriges Stäbchen verursachten Rattenseuche traten nach Schern (Arb. a. d. Reichsgesundheitsamt, Bd. 30. 1909. Heft 3) in der Leber bei Tieren mit mehr chronischem Krankheitsverlauf einige kleine Knötchen von Form und Aussehen der Pseudotuberkulose auf.

Zingle (Inaug.-Diss. Leipzig 1911) weist darauf hin, daß nekrotische Herde in der Leber nur bei chronischem Krankheitsverlauf zu beobachten sind. Bei Mäusetyphus beschreibt Loeffler (Centralbl. f. Bakt. Bd. 11. 1892. Nr. 5) in der meist parenchymatös getrübbten, stark fetthal-

tigen Leber hin und wieder kleine gelbliche Fleckchen. Bisweilen war die Leber sehr blutreich, bisweilen trocken glänzend, mehrfach bot sie aber auch ein normales Aussehen. Loeffler weist hiermit auf ein gewisses uneinheitliches Bild bei Mäusetyphus hin, das sich aus einem individuell verschiedenen Verlauf der Infektion ergibt. Gerade aber an der Leber treten diese Unterschiede am deutlichsten in Erscheinung. Bei den eigenen Versuchen zeigten die hochakut verlaufenen Fälle außer einer anfangs starken Hyperämie eine fettige Degeneration der Leber. Die mehr chronischen Fälle waren mehr oder weniger frei von einer fettigen Degeneration, bei ihnen traten dafür andere Veränderungen der Leber, namentlich nekrotische Herde, in Erscheinung. Letztere wurden aber nur frühzeitig sehr vereinzelt gefunden; in größerer Anzahl waren sie erst bei längerem Krankheitsverlauf festzustellen.

Die fettige Degeneration, welche nur bei schnellem Krankheitsverlauf in ausgesprochenem Maße gefunden wurde, bedingt wesentlich den frühen Tod der schon 5–10 Tage nach der Infektion verstorbenen Mäuse. Daß diese für die Leber als spezifisch toxisch anzusehende Wirkung der Bakterien sich

bei einzelnen Tieren stärker bemerkbar macht, dürfte wohl durch individuelle Konstitutionsverschiedenheiten bedingt sein.

Pathologisch-histologisch sind schon einen Tag nach der Infektion in der Leber Veränderungen festzustellen. Außer einer Hyperämie, und als deren Folge eine sichtliche Erweiterung der Venen und Kapillaren, finden sich intralobuläre, ganz vereinzelt zirkumskripte miliare Ansammlungen kleiner Zellen. Es liegen 5, 10 oder auch schon mehrere derartige Zellen zu einem Knötchen vereint. Sie sind klein rundlich, mit pyknotischem Kern und erinnern im Aussehen an lymphoide Zellen. Die Herkunft dieser Zellen war nach ihrer Gestalt nicht festzustellen. In einer kürzlich veröffentlichten Arbeit über Pseudotuberkulose (Zschr. f. Hyg. u. Infektionskr., Bd. 101, Heft 4), wo ähnliche zirkumskripte Zellansammlungen und spätere Nekrosen, wie beim Mäusetyphus, sich finden, spricht sich Fränkel dahin aus, daß er für einen Teil dieser Zellen annehmen möchte, daß es sich um Abkömmlinge von Leberzellen handelt, während man es bei anderen mit der Bindegewebsreihe angehörenden, vielleicht auch in Beziehung zu den Kuppferschen Sternzellen stehenden Gebilden zu tun hat. Keinesfalls spielen leukozytäre Elemente eine irgendwie nennenswerte Rolle bei der Zusammensetzung der fraglichen Knötchen. Die eigenen Untersuchungen lassen auch für den Mäusetyphus diese Annahme Fränkels zu. Als das Primäre des zur Knötchenbildung führenden Vorganges ist nach Fränkel eine ganz zirkumskripte Nekrose von Parenchymzellen anzusehen. Bei den eigenen Untersuchungen war jeweils an den kleinsten auffindbaren Knötchen, bei Ansammlungen von nur wenigen Zellen oben beschriebener Art, ein Schwund der Leberzellen samt ihren Kernen zu sehen. Statt ihrer waren diese kleinen Zellen vorhanden in einer strukturellen Umgebung. Sie zeigten wiederum im fortgeschrittenen Stadium einen Zerfall, aus dem sich schließlich eine vollständige Nekrose der Knötchen entwickelte. Für die Kuppferschen Sternzellen wird vermutet, daß auch sie sich an der Bildung dieser Zellansammlungen beteiligen. Die Ursache der Entstehung dieser Zellansammlungen ist anscheinend rein toxisch; Bakterien sind mikroskopisch in den ersten Tagen nach der Infektion in der Leber nicht nachzuweisen. 2, 3 und 4 Tage nach der Infektion nehmen die beschriebenen Zellansammlungen an Größe zu, sie bewahren aber ihren umschriebenen Charakter. Neben ihnen finden sich wiederum neuentstandene kleine Knötchen, deren Zahl sich von Tag zu Tag vermehrt.

4 Tage nach der Infektion sind zum erstenmal im Leberausstrich Bakterien nachzuweisen; teils liegen sie frei zwischen einer großen Menge Erythrozyten und den Leberzellen, teils sind sie in Leukozyten eingeschlossen, einzeln oder zu mehreren. Mit diesem Eintritt der Blutinfektion treten Leukozyten in starker Zunahme auf, sie liegen in größeren interlobularen und zentralen Venen anfangs in der Anzahl von zwei, vier oder mehr und außerdem in den erweiterten Kapillaren zwischen den Leberbälkchen. Späterhin ist die Anwesenheit der Leukozyten so zahlreich, daß die größeren Venen vollgepfropft erscheinen, und daß die umschriebenen Knötchen im Bild immer mehr zurückgedrängt werden. Außer den Leukozyten treten auch in den Lebergefäßen Histiozyten auf, deren Auswanderung in das umliegende Gewebe gleichfalls zu beobachten ist. Bisweilen fällt eine Ueberschwemmung des Leberparenchyms mit Erythrozyten und ein Zurückdrängen der Leberzellen auf; dieser Vorgang ist wohl auf eine Zerstörung von Kapillarwandungen zurückzuführen.

Bei den schnell verlaufenden Krankheitsfällen ist die fettige Degeneration auffällig. Bei Sudanfettfärbung sind vorwiegend die Randbezirke der Leberläppchen stark fetthaltig; Fettkristalle sind oft in reichlicher Menge zu sehen.

Die pathologischen Veränderungen der Leber bestehen bei akuten Krankheitsfällen in einer Hyperämie und Knötchenbildung. Mit der Blutinfektion geht eine sehr starke Leukozyteneinwanderung einher; schließlich kommt es zu fettiger Degeneration. Im Gegensatz hierzu beschränkt sich der Krankheitsverlauf bei mehr chronischen Fällen neben Hyperämie und Leukozyteneinwanderung auf Knötchenbildung mit folgender Nekrose. Die nekrotischen Herde sind makroskopisch als gelbe Punkte sichtbar; mikroskopisch sind sie scharf umschrieben und zusammengesetzt aus einer zusammengesinterten homogenen Masse, in der einzelne Kerntrümmer sich finden.



Fig. 8. Leber im Endstadium. *a* Knötchen, *b* nekrotische Herde.

Die nekrotischen Herde sind von keinem Zellwall umgeben, sondern liegen frei inmitten des sonst wohl erhaltenen Gewebes. Die Nekrose beginnt mit der Entstehung der Knötchen oder, um mit Fränkel zu sprechen, als das Primäre des zur Knötchenbildung führenden Vorganges ist eine ganz zirkumskripte Nekrose von Parenchymzellen anzusehen. Der Zerfall schreitet an den Zellen des Knötchens fort, teils zentral, teils auch peripher und endet schließlich in einer vollständigen Nekrose des Herdes.

Die hier mitgeteilten pathologisch-anatomischen Befunde beschränken sich

auf die für den Gesamtverlauf wesentlichen und charakteristischen Befunde. Genauere Einzelheiten wurden in der Veröffentlichung unberücksichtigt gelassen, da sie zweckmäßiger bei den in Folge zur Besprechung kommenden Detailfragen zu behandeln sind.

III. Veränderungen des Blutes und der blutbildenden Organe bei Mäusetyphus (Arnold).

Um die krankhaften Veränderungen im Blute und im hämatopoetischen Apparat bei Mäusetyphus festzustellen, über die in der Literatur nähere Angaben nicht zu finden sind, ist die Kenntnis der normalen Blutverhältnisse bei Mäusen notwendige Voraussetzung. Da die hämatologische Literatur hierüber wenig sagt, wurde zunächst durch Voruntersuchungen der normale Blutbefund sowie die normale zytologische Zusammensetzung der blutbereitenden Organe — Milz, Knochenmark, Leber — der weißen Maus festgelegt. In dem Buche von Klieneberger und Carl über die „Blut-Morphologie der Laboratoriumstiere“ sind hierzu eingehende Angaben gemacht. Für die vorliegende Untersuchung reichten diese Angaben aber nicht aus, da Klieneberger und Carl die weißen Blutzellen noch nach dem heute wohl allgemein aufgegebenen Ehrlichschen Schema einteilten, nachdem sich

die Monozyten in große mononukleäre und in Uebergangszellen als zwei getrennte Leukozyten-Arten aufspalten. Bei der großen Schwankungsbreite in der Zahl der einzelnen Leukozytenarten bei verschiedenen Tieren ist es ferner wichtig, das individuelle Blutbild der zu Versuchen benutzten Mäuse in gesundem Zustand genau zu kennen.

Da die Erythrozyten in der vorliegenden Arbeit außer acht gelassen wurden, seien über Hämoglobingehalt, Größe und Zahl in der Raumeinheit der Vollständigkeit halber hier nur einige Angaben Klienebergers und Carls angeführt: „Der durchschnittliche Hämoglobingehalt beträgt 90–100 Proz., die durchschnittliche Erythrozytenzahl 9,7 Millionen im Kubikmillimeter. Bei weiblichen Tieren scheinen diese Werte etwas höher zu sein als bei männlichen. Der Durchmesser der kreisförmigen roten Blutkörperchen beträgt 5,7 μ .“ Kernhaltige Vorstufen, sogenannte Normoblasten, treten normal nie peripher auf. Dagegen ist nicht selten eine Polychromasie festzustellen.

Die Zahlenverhältnisse der Leukozyten liegen bei der weißen Maus fast umgekehrt wie beim Menschen. Während die Hauptmasse der menschlichen Leukozyten aus neutrophilen Granulozyten besteht (67 Proz.), sind es bei der Maus die Lymphozyten (60–70 Proz.). Der Zahl nach folgen dann die neutrophilen Granulozyten mit 15–30 Proz. und dann mit durchschnittlich 6 Proz. die Monozyten. Eosinophile Granulozyten treten in 1–2 Proz. auf, basophile kaum nennenswert (0,3 Proz.). Klieneberger-Carl geben die Zahl der eosinophilen (auch azidophilen Leukozyten) mit der großen Schwankung 1–6 Proz. an. Eigene Untersuchungen haben aber ergeben, daß die Schwankung nicht so groß ist, und daß dort, wo 3 Proz. überschritten werden, klinisch und vor allem durch die Sektion immer pathologische Veränderungen festgestellt werden konnten, besonders bei der bei Mäusen (und allgemein Nagetieren) häufigen Kokzidiose der Leber. Auch ist in Blutkörperchen bei von fremder Hand bezogenen Mäusen an postinfektiöse Eosinophilie zu denken.

Zu den einzelnen Leukozytenarten der weißen Maus ist folgendes zu erwähnen. Der Kern der kleinen Lymphozyten zeigt keine ausgesprochene Differenzierung, er ist dicht und dunkel gefärbt und füllt die Zelle fast ganz aus. Er ist nur von einem schmalen hellblauen Plasmasaum umgrenzt, der besonders bei den großen Lymphozyten eine feine azurophile Granulation zeigt (keine echte Granulation im Sinne Ehrlichs, sondern, wie Pappenheim und andere Autoren annehmen, „ein funktionelles Sekretionsprodukt lymphoider Zellen“). Bei den großen Lymphozyten ist der Kern weniger pyknotisch und erscheint schwach gemustert. Der Form nach ist er oval, nieren- und bohnenförmig und manchmal leicht gebuchtet. Das Alter einer Zelle kann vornehmlich aus der Kernstruktur geschätzt werden. Leukozyten haben eine Lebensdauer von ca. 4 Wochen. Je jünger eine Zelle ist, desto zarter und netzartiger ist das Chromatin angeordnet. Man sieht dann auch deutlich Nukleolen, die in der Ein- oder Mehrzahl (2–3) auftreten. Beim Altern der Zelle ballt sich das Chromatin zusammen, und der Kern bekommt eine grobkalkige Natur, in der sich Einzelheiten kaum mehr unterscheiden lassen. Die Vorstufe der Lymphozyten (Lymphoblast, Lymphoidzelle) zeigt eine deutliche feinfädige Kernstruktur mit 1–3 hellblauen (Giemsa-Farben) Nukleolen, die normal niemals peripher auftreten.

Bei den neutrophilen Granulozyten fällt die sehr feine, kaum darstellbare Körnelung auf im Gegensatz zu den typisch gröberen und stärker färbbaren Granula beim Menschen. Klieneberger-Carl sprechen sogar von ungranulierten, polynukleären Leukozyten. Bei Verwendung von reinem Färbematerial und bei vorsichtigem Waschen zum Abschwemmen der Fixierungsflüssigkeit gelingt jedoch ihre Sichtbarmachung im Präparat meist, da die

Granula sehr wasserempfindlich zu sein scheinen. Der Kern ist gewöhnlich zusammenhängend in Form eines Kranzes, der durch Chromatinanhäufung schwach segmentiert erscheint. Freie, nur durch schmale, oft nicht sichtbare Zellbrücken verbundene Kernsegmente findet man in der 2—4-Zahl bei alten, ausgereiften Granulozyten. Normal kreisen im Blute bis zu 6 Proz. aller Neutrophilen auch jugendliche Formen, sogenannte stabkernige, in denen der T-, V-, oder U-förmig gewundene Kernstab meist deutliche Felderung ohne Nukleolen zeigt.

Die eosinophilen Granulozyten haben im zart blau gefärbten Plasma stark lichtbrechende, hämoglobinrot gefärbte Granula. Der Kern ist meist gelappt oder segmentiert ähnlich wie bei den Neutrophilen. Auffallend sind im Mäuseblut polymorphkernige Leukozyten, bei denen statt der typisch leuchtend roten Granula größere, undeutliche, verschwommene, rote Flecke im Plasma sind, der Kern dagegen hellblau wie bei den Eosinophilen und die Zelle auch sonst nicht verschieden erscheint. Vermutlich sind es jene Zellen, die Marek (klinische Diagnostik) als für die Nagetiere charakteristisch sogenannte Pseudoeosinophile anführt.

Mit diesen letzteren sind in bezug auf das Plasma ähnlich die basophilen Leukozyten, die Mastzellen. Im Plasma sind basophile Granula vorhanden, die aber leicht wasserlöslich sind und dann das klare Plasma violett rötlich färben. Der Kern dagegen ist sehr stark gelappt, kleeblattähnlich oder auch tief segmentiert. Man ist sich über ihre Bedeutung heute noch nicht klar.

Wichtiger ist die letzte Gruppe von normal im Blute kreisenden Zellen, die Monozyten. Das Plasma ist breit, hellblau und zeigt eine ganz feine Bestäubung. Mitunter treten helle, farbfreie Stellen im Plasma auf. Der große Kern ist rundlich bis polygon, wurstförmig oder plump segmentiert und liegt meist exzentrisch. Die Kernstruktur ist locker, Nukleolen fehlen. Von Lymphozyten unterscheiden sich die Monozyten durch ihre Größe und die zartere, durchsichtiger Färbung ebenso wie durch Neigung zur Polymorphie des Kernes. Die feinen, azurophilen Granula wechseln nach Zahl und Größe.

Die Blutplättchen liegen meist in Gruppen zwischen Erythrozyten verzerstreut, sind hellviolett-rot gefärbt und stellen unscharf rundliche Körperchen von körniger Struktur dar.

Bei den Mäusen wurde das Blut ausschließlich aus dem Schwanz entnommen. Er eignet sich hierfür bei der Maus vor allem deshalb, weil er wiederholt Blutuntersuchungen an ein und demselben Tiere während mehrerer Tage zuläßt. Von dem Schwanz werden kleine Stücke mit einer scharfen Schere abgeschnitten. Der austretende Blutstropfen wird sofort mit einem sauberen Deckgläschen auf einem ebenso reinen, fettfreien Objektträger in möglichst dünner, gleichmäßiger Schicht ausgestrichen. Die Schnittwunde selbst wurde zur Desinfektion und zum Schutz vor Verbluten mit Eisenchlorid (FeCl_3) oder Jodtinktur betupft. Oft genügt dies nicht, da die Mäuse häufig an dem verletzten Schwanzende saugen und so die Blutstillung verhindern. In den Fällen, wo die Blutung nicht stehen wollte, wurde mit einer schwach glühenden Pinzette ein leichter Brandschorf am Schwanzende erzeugt. Zuweilen tritt nicht genügend Blut hervor, um einen guten Ausstrich zu bekommen, oft sogar wartet man vergeblich, wenn die Wunde vorzeitig verklebt. In derartigen Fällen ist ein mechanisches Herauspressen des Blutes streng zu vermeiden, da bei derartigen Manipulationen sich das leukozytäre Blutbild verschiebt und man zu falschen Ergebnissen kommt. Man vermeidet diese Fehlerquellen eher, wenn man die Mäuse aufspannt. Hierzu wurde ein an den 4 Ecken durchbohrtes Brett benutzt. Durch diese Löcher sind Bänder gezogen, an denen Sandsäckchen von ca. 30 g Gewicht hängen; am anderen Ende der Bändchen ist eine Klammer, womit

man die Maus an den vier Extremitäten auf das Brett spannen kann. Diese Vorrichtung hat sich besonders bei infizierten Mäusen als brauchbar erwiesen, weil so ein steriles Arbeiten und Sezieren ohne Unterstützung durch eine Hilfskraft möglich ist.

Sämtliche Präparate wurden nach der polychromen Giemsa-Romanowsky-Methode gefärbt. Die Durchmusterung des Blutausriches nach weißen Blutelementen geschah durch Zickzackverschiebung des Präparates in seiner ganzen Ausdehnung. Diese zeitraubende Methode ist unbedingt notwendig, da erfahrungsgemäß sich die großen Zellen (Neutrophile und Monocyten) mehr am Rande des Ausriches anordnen, während die Lymphocyten mehr in die Mitte zu liegen kommen. Die von V. Schilling angegebene „4 Feld-Mäander“-Methode mag vom klinischen Standpunkt zur allgemeinen Orientierung genügen, noch dazu bei Mensch und größeren Tieren, wo es nicht schwer ist, so viel Blut zu bekommen, daß sich der Ausstrich fast über den ganzen Objektträger hinzieht. Jedoch bei kleinen Tieren, speziell hier bei der Maus, gelingt ein solcher Ausstrich nicht immer, es ist oft nur möglich, den halben Objektträger mit einer dünnen Blutschicht zu überziehen. Hier ist die erwähnte Differenziermethode von Schilling ungenügend und oft unausführbar. Um möglichst viele Leukozyten auszählen zu können, besonders bei den leukopenischen Verhältnissen im Verlauf der Infektion, ist deshalb ein mikroskopisches Durchmusteren des ganzen Ausriches erforderlich. Auch werden die Prozentzahlen genauer, je mehr ausgezählte Leukozyten zur Umrechnung vorhanden sind. So gelingt es sowohl in normalen wie in pathologischen Fällen durchschnittlich 200—400 weiße Blutzellen aus einem Blutausrich zu bekommen. Die Ermittlung der absoluten Leukozytenzahlen pro Raumeinheit erfolgte mit der gewöhnlichen „Thoma-Zeisschen“ Zählkammer, wobei als Verdünnungsflüssigkeit teils Hayemsche Lösung, teils 1proz. Essigsäurelösung, vermischt mit einer 1proz. Gentianaviolettlösung verwendet wurde. Letztere hat sich besser als die Hayemsche Lösung bewährt.

Es wird in der Literatur viel über den Wert der absoluten und relativen Leukozytenzahlen diskutiert. Besonders Naegeli steht streng auf dem Standpunkt, nur mit absoluten Zahlen zu operieren, während V. Schilling das relative Verhältnis der verschiedenen Leukozytenarten mindestens ebenso wichtig hält. Die Angabe der Differentialzahlen in Prozent ist zweifelsohne viel instruktiver als in absoluten, da hierin allein die Abhängigkeit und Verschiebung der einzelnen Leukozytenarten bei gleichbleibenden absoluten Zahlen zum Ausdruck kommt. Bei den vorliegenden Versuchen wurden sowohl bei gesunden und, wenn es möglich war, auch bei infizierten Tieren (es gelang nicht immer, genügend Blut für Ausstrich und Kammerzählung zugleich zu bekommen) die absoluten Zahlen festgestellt, woraus sich durch Umrechnung jederzeit leicht die absoluten Mengen jeder Zellart ergeben.

Die Bedeutung der relativen Zahlen wird erhöht durch die Arnethsche „Kernverschiebung“ der neutrophilen Granulozyten. Arneth wies auf Grund systematischer Untersuchungen darauf hin, die schon in Ehrlich und Pappenheim Vorläufer haben, daß hauptsächlich bei infektiösen Krankheiten das Knochenmark oft nicht mehr in der Lage ist, genügend reife neutrophile Polymorphkernige ins Blut zu senden und deshalb unreifere Formen in größerer Anzahl ins Blut abgestoßen werden als normal. Die Stammformen der weißen Blutzellen im Knochenmark sind einkernig unsegmentiert und werden im Laufe der Reifung durch Kernumwandlung stab- und segmentkörnig. (Die Abschnürung des Kernstabes in scheinbar isolierte Stücke, die jedoch durch oft nicht darstellbare feine zarte Zellbrücken verbunden bleiben, führte früher zu der irrtümlichen Bezeichnung „polynukleär“.) Die ursprüngliche, sehr kom-

plizierte und mühselige Einteilung Arneths ist heute allgemein verlassen, der Grundgedanke Arneths erwies sich aber als richtig; Sonnenburg und Kothe brachten die Arnethsche Methode auf ein einfacheres Schema, indem sie die Kernverschiebung nur nach einkernigen jugendlichen und mehrkernigen reifen Granulozyten bestimmten. Während nun Arneth annahm, daß die Linksverschiebung durch Anforderung und Verbrauch zustande käme, konnte V. Schilling nachweisen, daß auch unsegmentierte Kernformen von geschädigtem und gealtertem Aussehen auftreten können (degenerierte stabkernige). In Uebereinstimmung mit älteren Hämatologen, wie Naegeli, Türk u. a., erklärt V. Schilling diesen Befund mit einer direkten Knochenmarksschädigung, die besonders ausgesprochen in den leukopenischen Stadien fieberhafter Krankheiten, wie Typhus, Pappataciefieber, chronischem Fieber, Malaria usw., auftritt. V. Schilling sprach deshalb von „zentraler Degeneration“, die nebenbei bemerkt, auch an den Erythrozyten bereits im Knochenmark nachgewiesen werden konnte.

Es tritt also in den zentralen Bildungsstätten der weißen Blutkörperchen eine Ermüdung, Lähmung, Degeneration und teilweise Funktionsunfähigkeit (Insuffizienz) ein, die in der Kernverschiebung der Neutrophilen einen deutlich sicht- und meßbaren Ausdruck der pathologisch veränderten Hämatopoese findet. Besonders in diagnostischer Hinsicht ist die Kernverschiebung ein gutes und bewährtes Mittel, infektiös-toxische Blutbilder gegen nicht infektiöse gleicher Zusammensetzung zu unterscheiden. Nachdruck legt V. Schilling auf die Feststellung, daß Kernverschiebung und Fieber unabhängig voneinander sind und daher die „Verschiebung oft ein feinerer Indikator der Infektion“ ist. Das Wesentliche der Kernverschiebung — das gehäufte Auftreten unreifer Formen bei Infektionen — war auch dafür maßgebend, daß sie bei dieser Untersuchung eingehender beachtet wurde. Der Einfachheit halber wurde eine Zerteilung der Neutrophilen in unreife und in reife Zellen vorgenommen. Die Trennung wurde gemacht beim Uebergang von Stabkernigen zu Segmentkernigen. Um die Verschiebung im Verlaufe der Infektion festlegen zu können, war vorher das normale Verhältnis dieser beiden Zellgruppen zueinander zu bestimmen. Zu diesem Zwecke wurden nicht nur die Mäuse, die zu Infektionsversuchen verwendet wurden, in gesundem Zustand untersucht, sondern auch eine Anzahl andere gesunde Mäuse, um aus möglichst zahlreichen Blutaustriichen die normale Kernverschiebung zu errechnen. Sie schwankt durchschnittlich zwischen 5—7 Proz., d. h. auf 100 Segmentkernige treffen bei der weißen Maus gewöhnlich 5—7 unreife, unsegmentierte neutrophile Granulozyten.

Die absoluten Zahlen der Leukozyten bei der weißen Maus wurden durch zahlreiche Kammerzählungen ähnlich wie beim Menschen gefunden, im Mittel 7—8000 pro cmm. Niedrigere Zahlen kommen im gesunden Zustand fast nie vor; nicht so selten dagegen sind höhere Werte bis zu 10000. Um die individuellen Unterschiede zwischen verschiedenen Mäusen im ausgewachsenen Zustand für die Leukozytenzahlen festzustellen, wurde 10 Mäusen einmalig Blut entnommen und aus den 10 Präparaten die relativen Zahlen nebst normaler Kernverschiebung errechnet (s. Tab. I, S. 211).

Wie schon eingangs erwähnt wurde, ist das Blutbild der weißen Maus vorwiegend lymphozytär und zeigt im Vergleich zum menschlichen Blute umgekehrte Verhältnisse in bezug auf Lymphozyten und Neutrophile. Während die Monozyten, Basophilen und Eosinophilen annähernd konstant bleiben, ist die Breite der Schwankung bei den erstgenannten Zellarten etwas größer. Wenn auch individuelle Verschiedenheiten durch diesen Versuch nachgewiesen

Tabelle I.

Maus	Absol. Zahlen	Ausgez. Leukoz.	Ly	Mo	N		Bas	Eos	Ly	Mo	N	Bas	Eos	KV
					S	St								
1	7400	371	230	18	108	7	2	6	62	5	31	0,5	1,5	6,4
2	7800	265	188	16	55	3	—	3	71	6	22	—	1	5,4
3	7000	316	183	20	101	6	2	4	58	6,5	34	0,5	1	6
4	7500	229	149	11	62	4	—	3	65	5	29	—	1	6,4
5	7800	283	195	11	67	4	2	4	68,5	4,5	25	0,6	1,4	5,9
6	7600	356	260	21	66	5	—	4	73	6	20	—	1	7,5
7	8000	317	241	16	51	3	1	5	76	5	17	0,3	1,7	6
8	7200	208	146	9	47	3	1	2	70	4,5	24	0,4	1,1	6,3
9	7300	185	104	12	63	3	1	2	56	6,5	35,5	0,5	1,5	4,8
10	7700	291	192	17	73	4	1	4	66	6	26,5	0,2	1,3	5,5
Summe		2821	1888	151	693	42	10	37	Mittel:					
Mittel	7500								66,5	5,5	26,4	0,4	1,4	6

Neubildung in entsprechender gleicher Art vor sich. Um für die Maus hier Genauerer festzustellen, wurde nach derselben Auszählmethode das relative

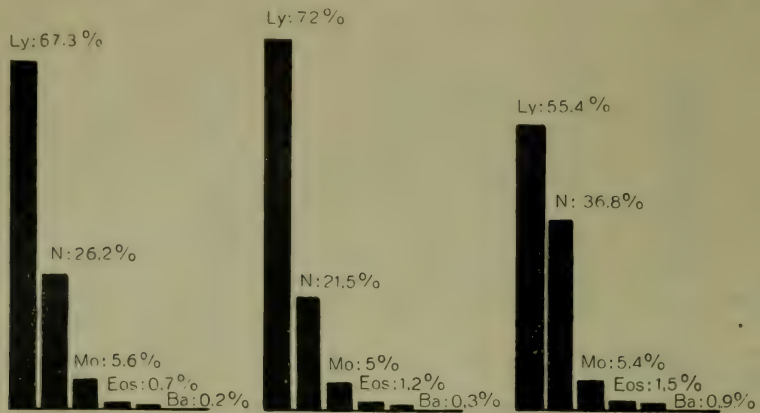


Fig. 9. Durchschnittszahlen der weißen Blutkörperchen.

Tabelle III.

Durchschnittszahlen der weißen Blutkörperchen.

	I. Durchschnittsbild von 10 Mäusen	II. von 10 weiteren Mäusen	III. von einer Maus (6 Präparate)
Lymphozyten	67,3	72,0	55,4
Neutrophile	26,3	21,5	36,8
Monozyten	5,6	5,0	5,4
Eosinophile	0,7	1,2	1,5
Basophile	0,2	0,3	0,9
Kernverschiebung	5,7	6,5	7,5

Zahlenverhältnis der in Milz und Knochenmark normalerweise auftretenden Zellformen festzustellen versucht. Die Schwierigkeit dieser auf die blutbildenden Organe angewandten Methode erhöht sich jedoch ganz bedeutend, da die feineren und zarteren Zellen beim Tupfpräparat viel leichter verletzt und verändert werden als beim Blutausschlag, wo die Zellen fast ungeschädigt auf den Objektträger hinfließen. Ferner ist die Klassifikation der Zellen speziell im Knochenmark viel umständlicher und unsicherer, da hier zu den reifen Granulozyten noch die unreifen Vorstufen (Myeloblasten, Promyelozyten, Metamyelozyten, Myelozyten neutrophil und eosinophil) treten, über deren rein formale Beschreibung sich die Angaben noch sehr widersprechen. Man könnte versucht sein, zu glauben, daß es überhaupt überflüssig ist, derartige Versuche systematisch durchzuführen, da sich in einem der Hämatopoese dienenden Organ dauernd ein Wechsel im Verhältnis der verschiedenen Zellarten vollzieht. Die bei der Maus angestellten Untersuchungen von Milz und Knochenmark führten zu keinem übereinstimmenden Ergebnis, was wohl auf die zu detaillierte Einteilung reifer und unreifer Zellen und auf die ungenügende Kenntnis besonders der letzteren zurückzuführen ist. Daß der Grundgedanke dieser Untersuchung richtig und brauchbar ist und vielleicht einen wesentlichen Fortschritt in der Erforschung der noch dunklen Vorgänge in den blutbereitenden Organen darstellen kann, konnte bereits Schilling in Gemeinschaft mit J. Bengler nachweisen (Dtsch. med. Wochenschr. 1925. V. Schil-

ling, Das Knochenmark als Organ. S. 467 f.). Schilling teilte das Knochenmark nur in die folgenden drei Gruppen und erzielte als Durchschnittswerte für

Normoblasten	36,64 Proz.	Grenzwerte:	31,6—42,0 Proz.
Neutrophile aller Vorstufen	41,25 „		39,4—43,8 „
Eosinophile	2,91 „		1,1—4,6 „

Nach dem Bericht von V. Schilling wurden durchschnittlich 81,4 Proz. (Grenzwerte: 75,1—88,2 Proz.) ausgezählt.

Der Rest bestand aus undifferenzierbaren Zellen, Zelleichen, Endothelzellen, Riesenzellen und eingeschwemmten Lymphozyten. Auffallend ist die geringe Breite der Schwankung für Neutrophile, die nur 4,4 Proz. beträgt. Damit ist der Beweis geliefert, daß auch im Knochenmark und sicherlich in der Milz, was die lymphoplastischen Herde betrifft, beim gesunden Organismus eine gesetzmäßige Zusammensetzung nach Zellart und relativer Zellzahl zugrunde liegt. Eine heute schon einwandfrei erwiesene Folge dieser Gesetzmäßigkeit ist die normal durchwegs konstante Kernverschiebung, welche eine Brücke darstellt über die Kluft zwischen Blut und Knochenmark.

Die Infektion der Mäuse mit Mäusetyphus erfolgte durch Fütterung in üblicher Art. Der verwendete Stamm tötete regelmäßig sicher 5—7 Tage nach der Infektion. Stämme von längerer Krankheitsdauer wurden für die Untersuchungen mit Absicht nicht verwandt. Um die Veränderungen im Blute, die Verschiebung der einzelnen Leukozytenarten und die Kernverschiebung festzulegen, wurde jeder infizierten Maus einmal im Tage Blut entnommen, so daß sich für jede Maus durchschnittlich 5—7 Blutausstriche ergaben, die einer genauen Auszählung unterzogen wurden. In einer zweiten Versuchsreihe wurde jeden Tag eine Maus seziert und Milz-, Knochenmark- und Leberpräparate angefertigt. Auf diese Weise erhielt man eine geschlossene Reihe von Präparaten, welche die Veränderungen der blutbildenden Organe in lückenloser Folge im Verlauf der Krankheit zeigen. Für Milz und Leber wurden durch Abtupfen einer frischen Schnittfläche mit dem Objektträger Klatschpräparate hergestellt. Der aus dem Zusammenhang herausgeschälte Femur wurde mit feiner scharfer Schere schräg geöffnet, dann wurde durch vorsichtiges Tupfen oder Ausstreichen das Knochenmark auf den Objektträger gebracht. Die Weiterbehandlung der Organpräparate geschah nach der gleichen Methode wie beim Blute.

Aus den verschiedenen, gleichmäßig verlaufenen Reihenuntersuchungen mögen die Blutbilder von 2 Mäusen zur näheren Beschreibung herausgegriffen werden.

Eine Mitteilung der Zahlen und Kurven für jedes Tier kann hier nicht erfolgen. Es mögen daher zwei charakteristische Beispiele herausgegriffen werden, die in Tabelle IV und Fig. 10 wiedergegeben sind (s. S. 214).

Im ganzen betrachtet, ergibt sich aus den Bildern der einzelnen Tiere ein durchaus gleichmäßiger Ablauf für die Leukozytenverschiebungen während der Krankheit. Sie sind bei den Einzeltieren dem Durchschnittsbild vollkommen entsprechend. Man kann daher die festgestellten Veränderungen als typisch für den Verlauf des Mäusetyphus betrachten. Absolut sinkt die Gesamtzahl der weißen Blutkörperchen von ihrer normalen Zahl auf ca. 5000 pro cmm, in einzelnen Fällen sogar noch weiter.

Zwei Veränderungen im Blutbild sind besonders deutlich. Die relativen Zahlen der Lymphozyten fallen, die der Neutrophilen wachsen. Zwischen 3. und 5. Tag kreuzen sich diese zwei Kurven. Die Kreuzung tritt früher bei kürzerer Krankheitsdauer ein. Die Monozyten bleiben relativ unverändert. Die Eosinophilen verschwinden dagegen vom

2. Tag vollständig. Auch bei mit Coccidiose behafteten Mäusen mit erhöhter Zahl der Eosinophilen verschwindet diese Zellart vollständig aus dem Blutbild. Ein Wiederauftreten der Eosinophilen, was von den meisten Autoren

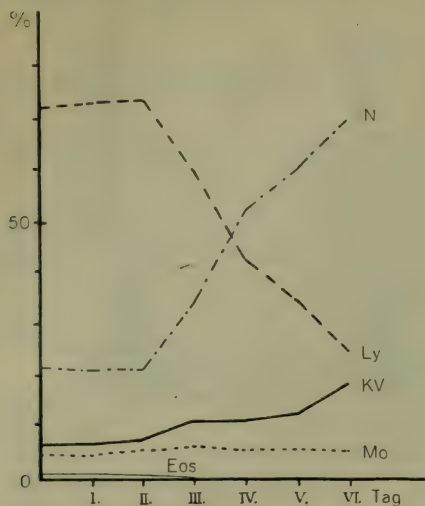


Fig. 10a.

N. = Neutrophile Granulozyten,
Ly. = Lymphozyten,
Mo. = Monozyten,

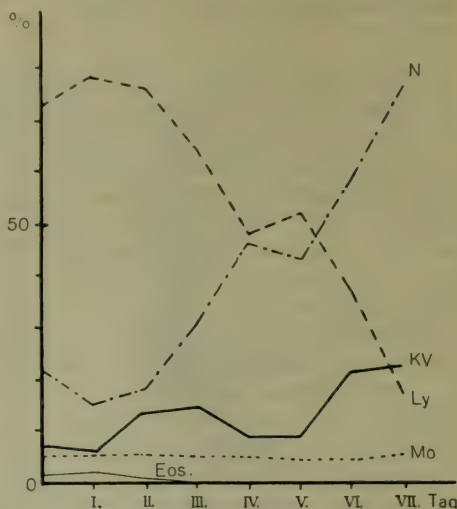


Fig. 10b.

Eos. = Eosinophile Granulozyten,
KV. = Kernverschiebung.

Tabelle IV.

Maus 1												
Tag	Ab- solut	Ausgez. Leukoz.	Ly	Mo	N		E	Lv	Mo	N	E	KV
					S	St						
I	7200	213	176	11	30	2	3	78,4	5,2	15	1,4	6,6
II	7000	380	292	19	60	8	1	76,8	5	17,8	0,4	13,3
III	7000	826	531	40	222	33	—	64,2	4,9	30,9	—	14,9
IV	—	160	77	8	69	6	—	48,1	5	46,9	—	8,7
V	6000	144	75	7	57	5	—	52	4,8	43,2	—	8,8
VI	—	264	97	13	127	27	—	36,7	4,7	58,6	—	21,2
VII	5200	35	6	2	22	5	—	17,1	5,7	77,2	—	21,7

Maus 2												
Tag	Ab- solut	Ausgez. Leukoz.	Ly	Mo	N		E	Lv	Mo	N	E	KV
					S	St						
I	7000	306	225	14	60	4	3	73,5	4,5	20,9	1,1	6,6
II	7000	285	209	15	56	4	1	73,3	5,3	21	0,4	7,1
III	6000	286	169	18	89	10	—	59	6,2	34,8	—	11,2
IV	—	274	116	16	128	14	—	42,3	5,8	51,9	—	11
V	—	138	47	8	74	9	—	34	5,8	60,2	—	12,1
VI	5400	37	9	2	22	4	—	24,3	5,4	70,3	—	18,1

(Naegeli, Loewit, Arneth, Sahli, V. Schilling u. a.) als prognostisch günstiges Zeichen bei Infektionskrankheiten, speziell bei Typhus und Paratyphus, gedeutet wird, konnte nicht beobachtet werden, da die Infektion bei den Versuchstieren stets tödlich endet. Die Basophilen, die infolge ihrer zu geringen Zahl in Tabellen und Kurven nicht angeführt sind, zeigen sich weder in Zahl noch in Form wesentlich verändert, scheinen also auf den Reiz der Infektion nicht zu reagieren.

Daß sich tiefgreifende Veränderungen im Knochenmark abspielen, zeigt die durchwegs zunehmende Kernverschiebung der Neutrophilen. Es treten in vermehrter Zahl neben charakteristischen Segment- und Stabkernigen besonders gegen das Ende der Infektion Jugendliche mit zunehmendem, myelozytären Gepräge auf. Die Kernverschiebung, die im Schillingschen Sinne gemischt degenerativ-regenerativ ist, wobei das erstere Moment wohl infolge des akuten Krankheitsverlaufes überwiegt, steigt bis zu 25 Proz., d. h. auf 100 Granulozyten treffen 75 reife und 25 unreife Formen (normal 5—7 Proz.).

Diese relativen Veränderungen ergeben, abgesehen von den Monozyten, auch in absoluten Werten, die sich durch Umrechnung leicht ermitteln lassen, kein abweichendes Bild. Wenn man den ersten und letzten Tag der Infektion ins Auge faßt und in dieser Zeit die Gesamtzahl der Leukozyten von durchschnittlich 7500 auf 5000 sinkt, wenn man ferner den Lymphozytensturz von

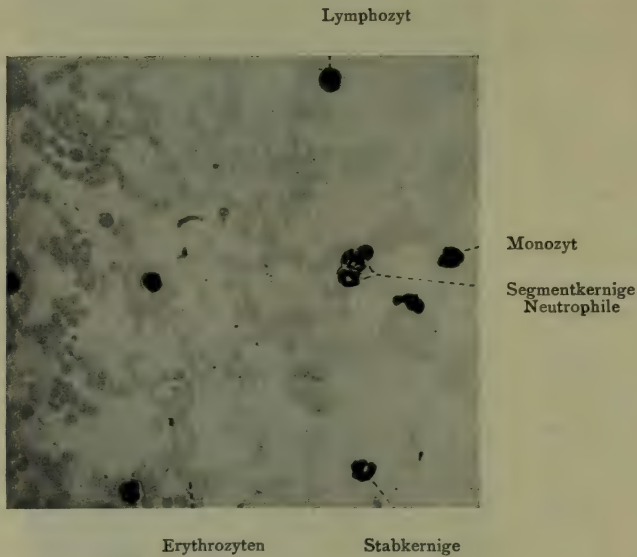


Abb. 11.

70 Proz. auf 25 Proz. im Mittel annimmt und für das Steigen der Neutrophilen dieselben Zahlen, doch in umgekehrter Reihenfolge beibehält, dann für diese beiden Zellarten die absoluten Werte errechnet, so besteht auch absolut ein Lymphozytensturz von ca. 5000 zu 1000 und darunter, während die Neutrophilen von durchschnittlich 1900 zu 3500 und darüber ansteigen. Die Monozyten, die relativ unverändert bleiben, sind absolut vermindert von durchschnittlich 375 auf 250 pro cmm.

Daß der Organismus auf den bakteriellen und toxischen Reiz stark reagiert, kommt auch zum Ausdruck durch das vermehrte Auftreten sogenannter „Reizformen“. Es sind lymphozytenähnliche Zellen mit dunkel-azurblau oder grünblau gefärbtem breiterem Plasmasaum und einfach rundem oder gebuchtetem pyknotischen exzentrisch liegendem Kern (Türk) oder „Radkern“-Zellen (Pappenheim), in denen das Chromatin ähnlich wie die Speichen eines Rades radiär angeordnet ist bei meist zentraler Kernlage.

Auch die Erythrozyten zeigen auffallende Veränderungen, vor allem zunehmende Polychromasie und vereinzelteres Auftreten kernhaltiger Vor-

stufen (Normoblasten), die normal nie im peripheren Blute der Mäuse gefunden wurden. Basophile Punktierung, körnige Degeneration konnte nicht beobachtet werden. Wenn auch die Reaktion der Erythrozyten auf diese Krankheitsnoxe nicht so auffällig ist wie bei den Leukozyten, so ist das Auftreten von Poikilozyten immerhin in diesem Sinne zu deuten.



Abb. 12.

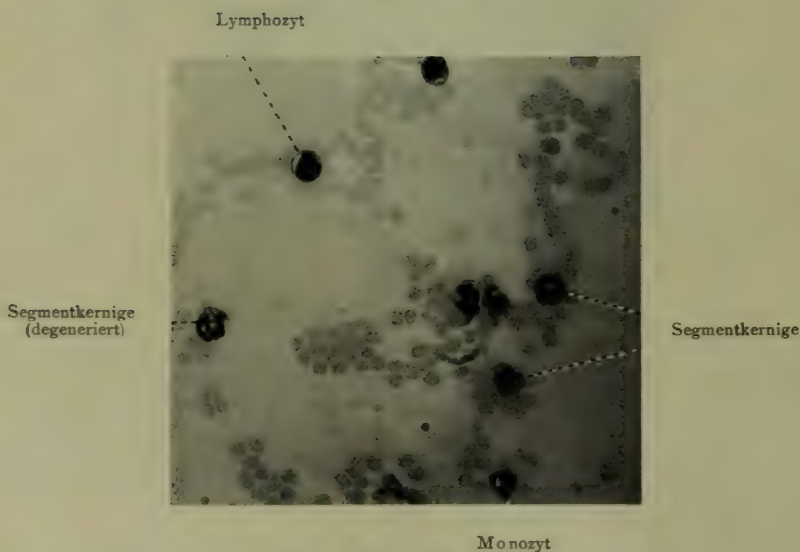


Abb. 13.

Die Veränderungen des Blutes, besonders die Veränderungen des Bildes der weißen Blutkörperchen, wurden durch Mikrophotogramm für den 1., 4. und 7. Tag der Infektion festgelegt (farbenempfindliche Perutzsilber-Eosinplatten).

Abb. 13. 24 Std. nach Infektion zeigt das normale leukozytäre Blutbild der Maus, hauptsächlich die überwiegend vorhandenen Lymphozyten.

Abb. 12. (4. Tag der Infektion) bringt das Stadium, in dem sich die Kurven kreuzen, bei zunehmender Kernverschiebung.

Abb. 13. (7. Tag) wird beherrscht von Neutrophilen mit Stabkernigen.

Zusammenfassend lassen sich die Veränderungen des Blutes folgendermaßen darstellen:

Das erythrozytäre Blutbild zeigt mitunter Normoblasten und stärkere Polychromatophilie. Es treten auch gestaltlich veränderte rote Blutkörperchen, sogenannte Poikilozyten auf. Körnige Degeneration, sogenannte basophile Punktierung, ist nicht vorhanden.

Die Leukozyten sind absolut vermindert. Pathologische Reizformen treten auf. Die Lymphozyten sinken absolut und relativ, während die neutrophilen Granulozyten ebenso steigen. Die Monozyten vermindern sich nur absolut. Die Eosinophilen verschwinden vollständig aus dem Blutbild und kommen nicht wieder zum Vorschein. Die Basophilen reagieren auf den Infektionsreiz scheinbar nicht. Die tiefgreifenden granulopoetischen Veränderungen des Knochenmarks kommen sichtbar und meßbar in der stark zunehmenden Kernverschiebung der Neutrophilen zum Ausdruck.

Für die Gewinnung der Organausstriche wurden Mäuse einer anderen Versuchsserie benutzt, die in gleicher Weise mit Mäusetyphus infiziert wurden. Alle 24 Std. wurde eine Maus getötet und von ihr nach vorhergehender Kammerzählung des Blutes Klatschpräparate von Milz, Knochenmark und Leber angefertigt. Die Blutbilder entsprechen durchaus dem oben Mitgeteilten.

A. Milz. Die Klatschpräparate der Milz, in denen normal hauptsächlich Pulpazellen (Splenozyten), ferner Lymphozyten verschiedener Größe, Riesenzellen, eingeschwemmte neutrophile und azidophile Granulozyten neben zahlreichen Erythrozyten und vereinzelt Normoblasten sich finden, weisen durch die Infektion verursachte grundlegende Veränderungen auf. Die Lymphozyten können scheinbar durch Hemmung der Zellbildung nicht mehr ausreizen und sind deshalb meist in Form unreifer lymphoider Zellen vorhanden, die relativ groß sind und schwach basophilen Kern und Plasma besitzen. Das Kerngerüst ist sehr fein und netzartig angeordnet, in dem etwas gröber wie die Körnchen der Granulozyten das Chromatin hängt. An einzelnen Stellen verdickt sich das Chromatin zu einer dunkler gefärbten rundlichen Masse, die wie Kernkörperchen aussehen. Auffallend ist das Auftreten von durchschnittlich 2—5 hellblau gefärbten Nukleolen. (Besonders zahlreich finden sich diese Zellen normal und pathologisch vermehrt in Leberausstrichen. Siehe bei Leber.)

Die embryonale Fähigkeit der Milz, Granulozyten und Erythroblasten zu bilden, ist mit fortschreitender Infektion wieder erwacht. Diese myeloide Metaplasie der Milz wurde in mehreren Präparaten, besonders in solchen vom Ende der Krankheit, beobachtet. Es treten Inseln mit typischen Myelozyten, Jugendlichen und Stabkernigen auf, und zwar scheint diese Rolle die Pulpa übernommen zu haben, während Erythroblastenbildung bei Infektionen noch auf das Knochenmark beschränkt ist. Grawitz erklärt diese pathologische Milztätigkeit mit der Annahme sogenannter „Schlummerzellen“, denen aus embryonaler Zeit her noch die Fähigkeit innewohnt, im Bedarfsfalle vikariierend für das Knochenmark einzutreten. Diese myeloide Metaplasie der Milz trägt übrigens auch zur Bildung des Milztumors bei.

Die hier folgenden Mikrophotographien der Milz vom 1., 4. und 7. Tag der Infektion stellen den Versuch dar, die hauptsächlichsten Veränderungen derselben zu illustrieren.

Abb. 14. (1. Tag) bringt die noch unveränderten Milzzellen, wie sie in der gesunden Milz zu sehen sind. Reife Lymphozyten und deren lymphoide Vorstufen in verhältnismäßiger gleicher Zahl. Daneben Erythrozyten, Riesenzellen und eingeschwemmte neutrophile und eosinophile Granulozyten.

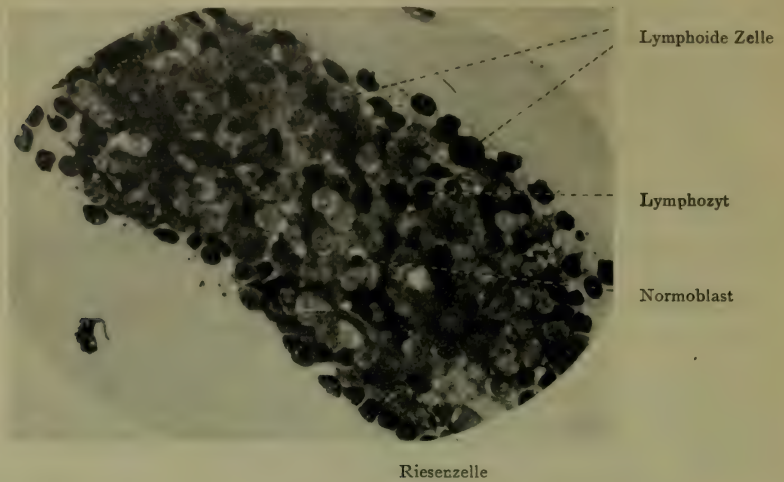


Abb. 14.

In Abb. 15 (4. Krankheitstag) tritt schon die durch die Infektion verursachte Umwandlung in der Milz zutage.

Außer der großen Riesenzelle in der Mitte, in der zahlreiche Stäbchen zu sehen sind, bemerkt man ein zahlenmäßiges Geringerwerden der reifen Lymphozyten und ein Ueberwiegen der lymphoiden Zellen.

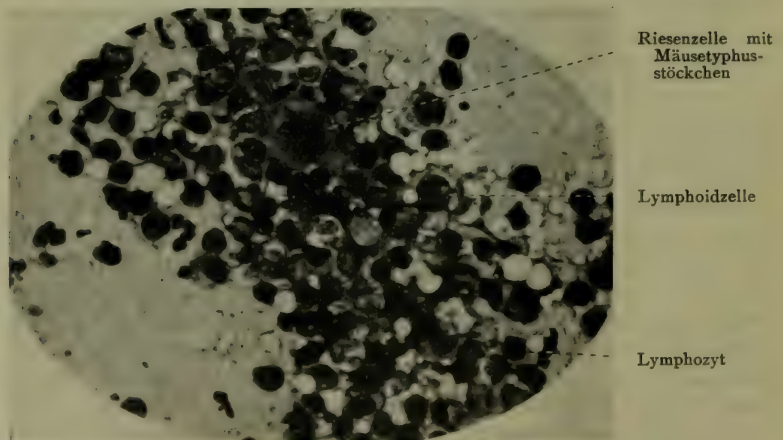


Abb. 15.

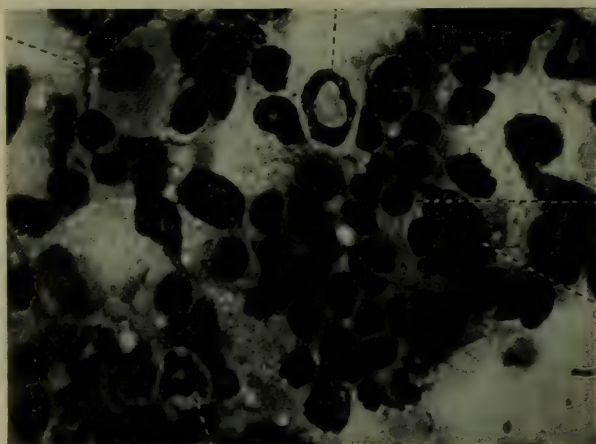
Während Abb. 14 u. 15 Abklatsche von Malpighischen Körperchen darstellen (der lymphozytäre Charakter überwiegt darin), gibt Abb. 16 (7. Infektionstag) die myelogene Metaplasie in der Pulpa wieder.

Es treten hier vor allem Myelozyten und jugendliche Neutrophile auf, zwischen denen zahlreiche Stäbchen liegen.

Die Hauptaufgabe der Milz im postembryonalen Leben ist zweifellos der Abbau verbrauchter Blutzellen und die Bildung der Mehrzahl der Lymphozyten. Der Befund, daß die Follikel, in denen diese Bildung vor sich geht, durch den infektiösen Reiz kleiner werden, teilweise sogar funktionsunfähig oder ganz verschwinden, gibt wohl eine Erklärung für die absolute und relative Minderung der Lymphozyten im Blutkreislauf. Scheinbar leiden unter demselben Hemmungsreiz auch jene Organe, die sonst vikariierend für die Milz eintreten können, nämlich die Lymphknoten des ganzen Organismus, in der Leber die Kuppferschen Sternzellen und eventuell auf innersekretorische Veranlassung auch das Knochenmark. Eine weitere wichtige infektiös verursachte Veränderung ist die, wenn auch nicht stark ausgebreitete myelogene

Kranzförmiger Neutrophiler

Riesenzelle



Lymphozyt

Neutrophiler
Myelozyt

Neutrophiler Stabkerniger

Abb. 16.

Metaplasie der Milz. Sicherlich würde diese dort mehr Platz greifen, wenn die Krankheit einen chronischeren Verlauf nehmen würde.

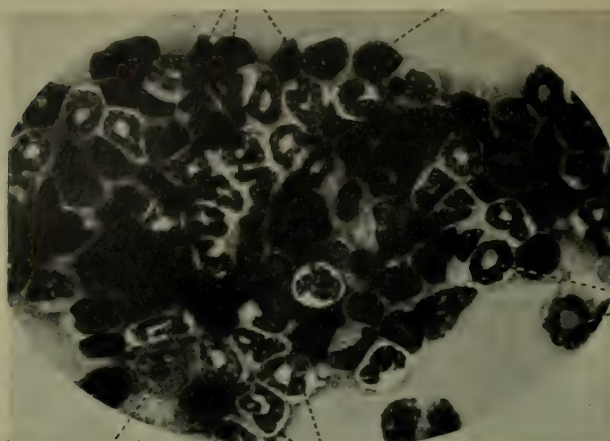
B. Knochenmark. Bei der Eröffnung des Femurs ist am 1. Tage der Infektion noch keine wesentliche Veränderung festzustellen. In der Mitte und besonders am Ende der Krankheit aber zeigt sich eine solche schon äußerlich vor allem durch den Farbumschlag. Das normal gelbliche Knochenmark ist in diesen Stadien stark gerötet, oft dunkelpurpurrot und macht den Eindruck, als würde es sich im Zustand der heftigsten Entzündung befinden. Jedenfalls ist eine der Hauptursachen dieser makroskopisch sichtbaren Umwandlung die allgemeine „Hyperämie“. Näher betrachtet, sieht das Knochenmark aus, als wäre es gequollen und nur durch die starre Umhüllung an weiterer Ausdehnung gehindert.

Mikroskopisch zeigen sich beim Vergleich der Präparate einer Infektionsreihe in erster Linie jene umwälzenden tiefgreifenden Veränderungen, die zum Teil im strömenden Blute durch die gesetzmäßig ablaufende Kernverschiebung zum Ausdruck kommen. Während das Knochenmark als das ausschließliche Organ der Granulo- und Erythropoese normal neben zahlreichen myelozytären ungranulierten Vorstufen ausgesprochene Stabkernige und reife segmentierte

Neutrophile zeigt, ebenso eosinophile Myelozyten und reife Eosinophile, daneben noch zahlreiche Normoblasten und Megaloblasten (kleine und große Erythroblasten), ferner Megakariozyten (Riesenzellen) und manchmal auch

Normoblasten

Neutrophiler Myelozyt

Segmentkernige
(kranzförmig)

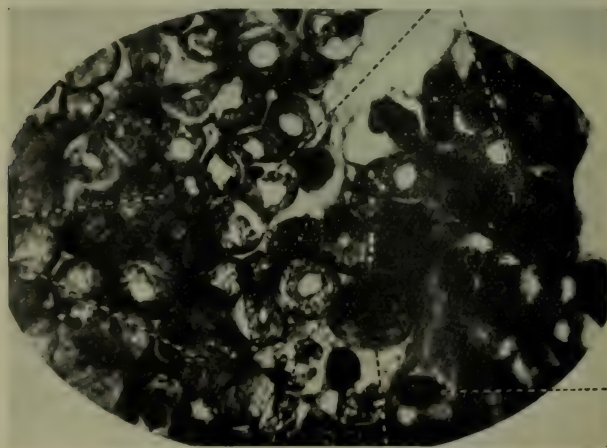
Promyelozyt

Stabkernige

Abb. 17.

Lymphozyten und Monozyten, treten im Laufe der Infektion die reiferen Elemente in den Hintergrund und verschwinden bis zum Ende derselben fast vollständig aus dem Gesichtsfeld. Es finden sich in der Hauptmasse nur mehr

Stabkernige



Myelozyten

Normoblast

Segmentk. (deg.) Myelozyt

Abb. 18.

Zellen von durchwegs myelozytärem und promyelozytärem Charakter. Daneben sind unverändert in Zahl und Gestalt die Erythroblasten. Vermehrt dagegen sind die Riesenzellen, vielleicht als Reaktion auf das massenhafte Auftreten von Bakterienstäbchen.

Die drei vom Knochenmark angefertigten Mikrophotographien sollen die im Laufe der Infektion sich abspielenden Veränderungen zeigen.

Abb. 17 gibt die normale Beschaffenheit des Knochenmarks wieder. Zahlreiche Stab- und Segmentkernige sind hier in ziemlich ausgereifter Form, so, wie sie peripher im Blute auftreten, vorhanden. Daneben sind reichlich Myelozyten und Erythroblasten sichtbar.

Abb. 18 (4. Tag der Infektion) zeigt das vermehrte Auftreten unreifer Formen, die zum Teil degeneriert oder geschädigt erscheinen. Myelozyten und Promyelozyten beherrschen das Bild. Die Stabkernigen sind nur mehr spärlich vorhanden, und die reifen segmentkernigen Neutrophilen fehlen ganz. Es trifft dies in demselben Maße auch für die Eosinophilen und ihre Vorstufen zu.

In Abb. 19 (7. Tag nach der Infektion) findet sich neben vorwiegend neutrophilen und eosinophilen myelozytären Vorstufen eine große Riesenzelle, in der

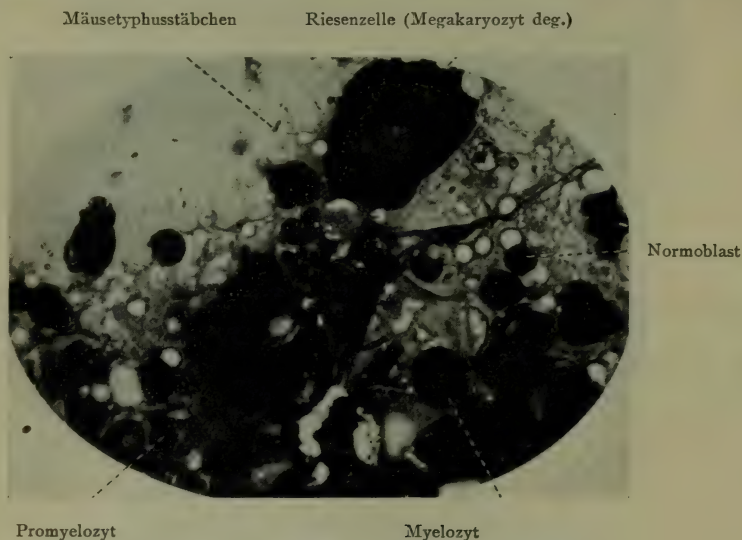


Abb. 19.

sich der Kern hell gegen das dunklere Protoplasma abhebt. Es scheint dies entweder eine Jugendform oder eine infektiös geschädigte Zelle zu sein.

Die im Knochenmark auftretenden Lymphozyten sind durch den Blutstrom auf dem Wege durch die Foramina nutritia über die Kapillaren in die medullären Sinus gelangt. Ähnlich steht es auch, zum Teil wenigstens, mit den dort auftretenden Monozyten. Es ist jedoch nicht von der Hand zu weisen, daß ein anderer Teil dieser Zellart, die nach den neuesten Forschungen vom retikulo-endothelialen System gebildet wird, im Knochenmark unabhängig von der Granulo- und Erythropoesie selbst entsteht. Die Wandung der Kapillaren und Sinus besteht nämlich aus einer einschichtigen Endothellage, die Monozyten zu bilden vermögen.

Es wäre denkbar, daß auch das Knochenmark im Bedarfsfalle metaplastisch zur Bildung von Lymphozyten einspringen könnte. Doch wurden in keinem der durchgemusterten zahlreichen Präparate aller Stadien der Infektion lymphoide Inseln im Knochenmark gefunden. Dies hängt sicherlich damit zusammen, daß das Knochenmark das am stärksten in Mitleidenschaft gezogene

Organ ist, und daß daher bei Milzinsuffizienz die Bildung der Lymphozyten höchstens von den Lymphknoten übernommen wird.

Bei den sehr schnell tödlich verlaufenden Fällen war das Knochenmark normal gelb oder gar auffallend blaß. Es hat sich hier scheinbar gar nicht gegen die überaus heftige Infektion gewehrt und ist deshalb gleich von Anfang an in den Zustand der Aplasie, der vollständigen Insuffizienz getreten. Im Blutbild selbst kommt diese plötzliche Einstellung der Knochenmarkstätigkeit nicht sonderlich zum Ausdruck. Jedenfalls erhellt daraus, daß es nicht genügt, sich mit den Ergebnissen der Blutveränderung abzufinden. Gerade durch die teilweise oder vollkommene Einstellung der Zellbildung im Knochenmark läßt sich die Schwere der Krankheit richtig beurteilen zu einer Zeit, wo Lymphozytensturz, Ansteigen der Neutrophilen und vor allem Kernverschiebung im Blut hierfür noch kein ausgesprochenes Zeugnis ablegen.

Die Hoffnung, das plötzliche Verschwinden der Eosinophilen aus dem Blutbild durch das Studium des Knochenmarks aufklären zu können, hat

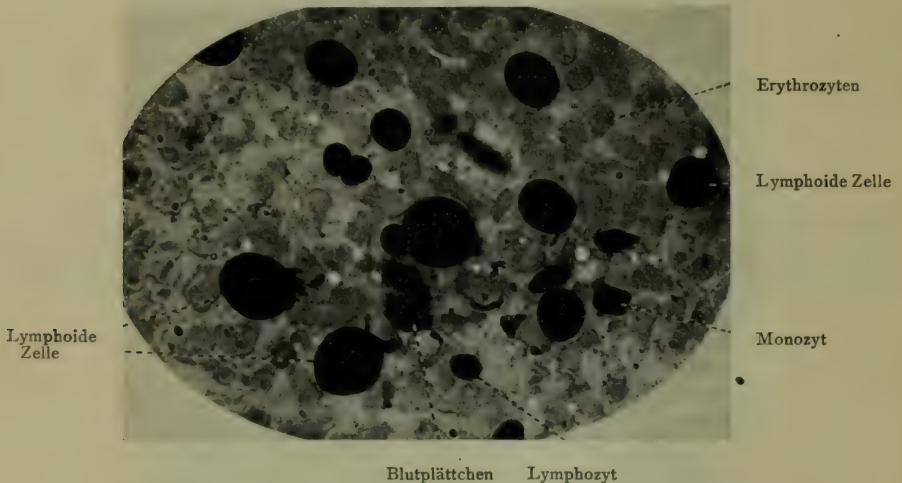


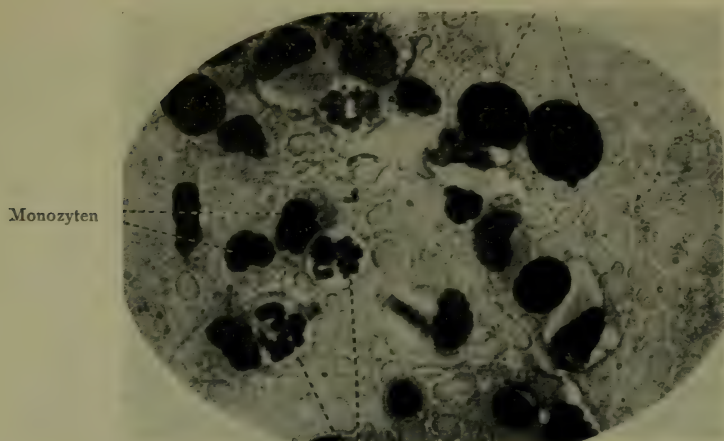
Abb. 20.

sich nicht erfüllt. Man sucht auch in der Literatur vergeblich nach Angaben darüber. Man könnte glauben, daß zum mindesten unreife eosinophile Vorstufen, die im Knochenmark der mittleren und letzten Infektionstage tatsächlich vorhanden sind, ähnlich wie neutrophile Stabkernige und Myelozyten, in den Blutkreislauf treten würden. Sicherlich steht das eigenartige Verhalten dieser Zellart in engster Verbindung mit dem Abwehrkampf des Körpers gegen die Infektionserreger und deren Toxine, so daß die eosinophilen Myelozyten durch diese Arbeit schon im Knochenmark gebunden sind und dementsprechend in ihrer Weiterentwicklung gehemmt und zurückgehalten werden.

C. Leber. Zytologisch zeigen sich in den Klatschpräparaten der Leber nur wenig bemerkenswerte Änderungen. Die Ausstriche ergeben bei gesunden Tieren ähnliche Bilder wie das Blut. Dazu kommen normal und pathologisch auffallend reichlich jene Zellen, die weiter oben als lymphoide Zellen in der Milz beschrieben wurden. Im Laufe der Infektion treten eben dann auch die mit dem Blutstrom eingeschwemmten veränderten Blutzellen in der Leber auf, so daß im Ausstrich während der Krankheitsperiode wieder ähnliche Zellen gefunden werden wie im Blut zur selben Zeit.

Die Verhältnisse sind bildlich in den Mikrophotographien festgehalten. Abb. 20 stellt einen lymphoiden Haufen von Zellen verschiedener Größe dar. Dazwischen liegen Lymphozyten, Blutplättchen und rote Blutkörperchen. Abb. 21 (4. Tag der Infektion) bringt zu diesen Zellen noch neutrophile

Lymphoide Zellen



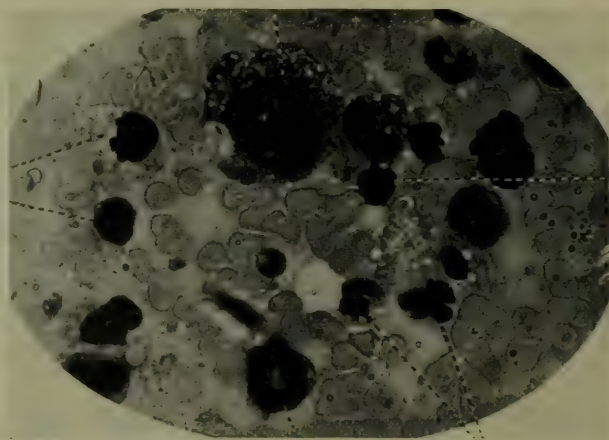
Segmentkernige Lymphozyt

Abb. 21.

Elemente und Monozyten, welche teilweise schon unter der Infektion gelitten haben. Dazwischen liegen vereinzelte Stäbchen.

Abb. 22 (7. Tag der Infektion) zeigt ausgesprochen die schädigende Wirkung der Krankheitsnoxe auf die Zellen.

Riesenzelle (deg.)



Lymphozyt

Segmentkernig
(degeneriert)

Kranzförmiger Neutrophiler

Segmentkörniger (deg.)

Abb. 22.

Die große Zelle mit dem lymphoiden Gepräge hat besonders stark gelitten. Hie und da treten im Ausstrich die sogenannten Kuppferschen Sternzellen

auf, die verschiedentlich mit Bakterien und Erythrozytentrümmern beladen sind. Diese Zellen, welche zwischen Lymph- und Gefäßraum der Pfortaderkapillaren liegen (Eppinger), haben die Eigenschaft ausgesprochener Phagozytose und können (Schilling) Bakterien vernichten.

Zusammenfassung zu Teil III.

Blut.

Aehnlich wie beim Abdominaltyphus des Menschen tritt auch beim Mäusetyphus eine Verminderung der Gesamtleukozytenzahl von durchschnittlich 7500 auf 5000 pro cmm ein. Die absolute und relative neutrophile Granulozytose und Lymphopenie haben eine Kreuzung der Kurven dieser Zellarten meist zwischen 3. und 4. Infektionstage zur Folge. Ebenso typisch wie beim Abdominaltyphus des Menschen ist auch hier das völlige Verschwinden der eosinophilen Granulozyten schon gleich zu Beginn der Krankheit. Da die Krankheitsdauer für Mäuse sehr kurz ist, konnte ein Wiederauftreten dieser Zellart nicht beobachtet werden. Relativ bleiben die Monozyten unverändert; absolut dagegen besteht eine geringgradige Verminderung. Die basophilen Mastzellen nehmen an den durch infektiösen Reiz verursachten Veränderungen des Blutes scheinbar nicht teil. Dagegen treten typische „Reizformen“ auf. Das erythrozytäre Blutbild zeigt im Verlaufe der Krankheit zunehmende Polychromasie und schwache Poikilozytose. Basophile Punktierung wurde nicht wahrgenommen.

Blutbildende Organe.

A. Milz.

Der Milztumor ist zurückzuführen auf die durch den infektiös-toxischen Reiz verursachte außerordentliche Hyperämie und die gewaltige Vermehrung der Pulpazellen. Die absolute und relative Verminderung der Lymphozyten im Kreislauf hat ihren Grund in der Zurückbildung und teilweisen Einschmelzung der Malpighischen Körperchen, in welchen die Lymphozytenzentren der Milz liegen. Mit dieser Erscheinung ist auch das Unvermögen der Milz in Einklang zu bringen, bei zunehmender Krankheit die Zellen ganz auszureifen, so daß die lymphoiden Formen vorherrschen. Myeloide Metaplasie konnte mehrmals mit typischen granulierten Zellen beobachtet werden, besonders in Fällen von längerer Krankheitsdauer. Diese myeloide Metaplasie, das massenhafte Auftreten der Stäbchen, die erhöhte Phagozytose und die Wirkung der Bakterientoxine sind ebenfalls an der Bildung des Milztumors beteiligt.

B. Knochenmark.

Das Knochenmark ist das am stärksten geschädigte Organ der Hämatopoese. Es befindet sich gegen Ende der Infektion in einem Zustand heftigster Entzündung. Mikroskopisch kommt diese Schädigung vor allem in der gesetzmäßig zunehmenden Kernverschiebung des neutrophilen Blutbildes zum Ausdruck, die gegen Ende der Infektion fast ausschließlich degeneriert wird. Selbst in dieser höchst einfachen Art der Einteilung neutrophiler Granulozyten in

reife Segmentkernige und Unreife aller Vorstufen ist die Kernverschiebung ein verlässiger Führer behufs Diagnose und Prognose, der die tiefgreifenden Veränderungen des Knochenmarks in meßbarer Form teilweise wenigstens erkennen läßt. Im Knochenmark selbst beherrscht gegen Ende der Infektion der myelozytäre und promyelozytäre Zelltyp das Bild; Segmentkernige, Stabkernige und Jugendliche sind gänzlich daraus verschwunden oder nur in degenerierter Form vorhanden. Vermehrung der Megakariozyten und das Auftreten pathologischer „Reizformen“ ist sicherlich mit der zahlreichen Invasion von Typhusstäbchen verbunden. Das Knochenmark reagiert auf den infektiös-toxischen Reiz in der Hauptsache mit einer pathologisch veränderten Granulopoese, während die Erythropoese nicht wesentlich darunter zu leiden scheint. In hoch akuten Fällen tritt eine fast völlige Insuffizienz des Knochenmarks ein. Es scheint, daß dieses Organ, durch den heftigen Reiz gehemmt, seine Tätigkeit eingestellt hat.

C. Leber.

In der Leber treten auffallend vermehrt lymphoide Zellformen in sehr variabler Größe auf, die gegen Ende der Krankheit degenerative Formschädigungen aufweisen. Im Abwehrkampf gegen die eindringenden pathogenen Erreger betätigen sich hauptsächlich die endothelialen Kuppferschen Sternzellen. Die bedeutende Größenzunahme der Leber, die nekrotische Geschwülbildung und teilweise fettige Degeneration zeigt, ist unter anderem auch auf die starke Durchblutung und Anschoppung mit Leukozyten aller Arten zurückzuführen.

Nachdruck verboten.

Gebrauchen wir ein einheitliches umfassend polyvalentes Paratyphusserum?

(Aus dem Wehrkreislaboratorium des Wehrkreis I.)

Von Stabsarzt Dr. **Brekenfeld**, Wehrkreishygieniker.

In einer Truppenküche wurde am Sonnabend, den 15. 10. 27, vormittags Hammelfleisch mit Weißkol und Kartoffeln verarbeitet. Das Hammelfleisch wurde zu diesem Zweck erst für sich allein im ganzen und später noch einmal kleingeschnitten mit Kohl und Kartoffeln zusammen gekocht. Ein zur Küche kommandierter Soldat aß um 10 Uhr als einziger von dem zum erstenmal gekochten Hammelfleisch, von dem er später angab, es habe einen üblen, süßlichen Geruch und Geschmack gehabt. Bald darauf klagte er über heftige Kopf-, Leibschmerzen, Schüttelfrost und sehr starken Durst. Nachmittags um 5 Uhr ging er nach Angaben eines Kameraden noch in die Stadt, kam aber schon nach einer halben Stunde zurück und legte sich ins Bett, weil er über Frösteln, Kopf- und Magenschmerzen klagte. Gegen Abend und in der Nacht

stellte sich heftiges Erbrechen ein (angeblich ein halber Wassereimer voll). Da das Unwohlsein anhielt, meldete er sich am Sonntag früh krank und wurde wegen Magen-Darmkatarrhs zunächst in der Truppenkrankenstube behandelt. Temperatur am 16. 1 Uhr mittags 38,0, abends 37,5. Da die Durchfälle anhielten und am 16. 10. abends erneut wiederholtes Erbrechen auftrat, wurde er am 17. 10. vormittags dem Lazarett überwiesen. Nachforschungen nach der Beschaffenheit des Hammelfleisches ergaben, daß die Wahrnehmung eines unnormalen Geruches oder Geschmacks von keinem sonst gemacht worden ist, daß auch sonstige selbst leichte Erkrankungen dieser Art am 15. 10. und den folgenden Tagen nicht vorgekommen sind. Zu bemerken ist, daß alle anderen das Hammelfleisch erst genossen haben, nachdem es zerkleinert und mit Kohl und Kartoffeln zusammen zum 2. Mal gekocht war. Aus dem Befund bei der Aufnahme des Erkrankten im Lazarett ist dem Krankenblatt kurz Folgendes zu entnehmen: „Starke blaue Verfärbung der ganzen Haut, besonders ausgeprägt im Gesicht und an den Händen. Hände und Füße kalt und feucht. Zunge belegt, trocken. — Augen o. B. — Herz: Tätigkeit stark beschleunigt, Puls 130 in der Minute, sehr klein, kaum fühlbar. — Lunge: Atmung kurz und schnell. Vorn rechts unten Knisterrasseln. — Bauch: Weich, eindrückbar. Druckempfindlichkeit des ganzen Unterleibes. Kein Milztumor. — Untere Gliedmaßen: Druckempfindlichkeit und krampfartige Schmerzen in der rechten Wade. — Stimme heiser, leise. — Sensorium: Patient reagiert sofort auf Anruf und gibt vollkommen geordnete Antworten. — Ueber den Verlauf ist kurz Folgendes zu sagen: 17. 10. dauerndes Erbrechen und Durchfälle. Erbrochenes riecht nach Kot. Stuhl dünnflüssig, gelblich. Starkes Durstgefühl. Nach verhältnismäßig ruhiger Nacht vom 17. zum 18. vermag Patient am 18. 10. morgens erstmalig flüssige Kost bei sich zu behalten. Herzschwäche trotz Gegenmittel anhaltend. 18. 10. mittags starker Luftmangel, Patient zeitweise erregt, unruhig und verwirrt. Auf Anruf vermag er sich jedoch zu sammeln und geordnete Antworten zu geben. Um 17 Uhr trotz dauernder Reizmittel langsame Nachlassen der Herztätigkeit. 18. 10 Uhr Exitus. Sektion. Makroskopisch: Parenchymatöse Degeneration des Herzmuskels, Lungenödem aller Teile. Hypostase beider Unterlappen; Bronchitis, Tracheitis. Geringe Stauung der Leber. Parenchymatöse Degeneration der Nierenrinde. Enteritis katarrhalis follicularis des unteren Dünndarms; Colitis katarrhalis.

Mikroskopisch: In der Lunge stellenweise kleine frische bronchopneumonische Herde neben einer chronischen Bronchitis. Die Schleimhaut von Dick- und Dünndarm ist ödematös und stellenweise meist in geringem Grade entzündlich infiltriert. Verschiedentlich finden sich im Dickdarm kleine oberflächliche Geschwüre. Leber und Milz sind mäßig gestaut. Sonst kein pathologischer Befund.

Stubenkameraden sagen aus, daß der Verstorbene ihnen schon lange einen kranken Eindruck gemacht habe. Er schwitzte bei der geringsten Anstrengung und habe keine gesunde Gesichtsfarbe gehabt. Einem Kameraden gegenüber soll er geäußert haben, daß er schon einmal Erscheinungen von einer Nikotinvergiftung gehabt habe. Er wird als mittelmäßiger Raucher bezeichnet.

Hammelfleisch stand zur bakteriologischen Untersuchung leider nicht mehr zur Verfügung.

Bakteriologische Untersuchung von Blut, Stuhl und Erbrochenem im Wehrkreislaboratorium I:

Blut: Gruber-Widal:	Ty. negativ
„	„ Paraty Schottmüller 1:100 positiv
„	„ Paraty Breslau negativ
Blut in „ Galle	kulturell steril.

Aus dem Stuhl und Erbrochenen wurden gleich aussehende gramnegative kurze, bewegliche Stäbchen gezüchtet, und zwar aus dem Erbrochenen auf Endo- und Drigalski-Platten eine Reinkultur von vielen Kolonien. Die aus Stuhl und Erbrochenem gezüchteten beiden Stämme verhielten sich biologisch vollkommen gleich, und zwar:

Agar: Große saftige Kolonien. Schleimwallbildung angedeutet.

Raffinoseagar: Keine Knopfbildung.

Neutralrotagar: Gasbildung; Verfärbung.

Lakmusmolke: Rot, trübe, Umschlag nach 48 Std.

Rhamnosemolke: Rot.

Sternbouillon: Purpurviolett.

2 Mäusefütterungsversuche: beide Mäuse starben nach 48 Std.; beim 1. Mäusefütterungsversuch wurde der Stamm aus Blut und Milz, beim 2. Versuch aus Blut und Darm gezüchtet.

Agglutination mit verschiedenen Seren:

Schottmüller-Serum 1:3200 + (Endtiter 1:20000)

Breslau- „ 1:100 + („ 1:5000)

Gärtner- „ negativ („ 1:6000)

Suipestifer- „ 1:1600 + („ 1:10000)

Voldagsen- „ 1:200 + („ 1:3000)

Während man nach dem klinischen Bild, dem kulturell-biologischen Verhalten und Tierversuch die beiden aus Stuhl und Erbrochenem gezüchteten Stämme zum Breslautyp rechnen muß, sind sie nach dem agglutinatorischen Verhalten zum Schottmüller- oder Suipestifertyp zu zählen. Sie könnten somit zur Aerthryckgruppe gerechnet werden.

Wegen des atypischen Charakters wurde der aus dem Erbrochenen gezüchtete Stamm zur weiteren Klärung des Falles an Herrn Prof. Gildemeister im Reichsgesundheitsamt, das Hygienische Institut Kiel und das Medizinaluntersuchungsamt am Hygienischen Institut Königsberg mit der Bitte um Untersuchung geschickt. Das Verschicken erfolgte 4 Wochen nach Herauszüchten des Stammes aus dem Erbrochenen. Die Resultate sind folgende:

Prof. G. im Reichsgesundheitsamt:

Agar: Keine Schleimwallbildung.

Raffinoseagar: Keine Knöpfchenbildung.

Rhamnosemolke: wie Breslau.

Sternbouillon: wie Breslau.

Mäusefütterungsversuch: negativ.

Serologisch: Schottmüller-Serum 1:800 +

Breslau- „ 1:3200 +

Gärtner- „ 1:100 +

Suipestifer- „ 1:3200 + und 1:6400 ±

Die 4 Sera hatten alle einen etwa gleichgroßen Endtiter.

Prof. G. hält auf Grund der Untersuchungsergebnisse den Stamm für einen atypischen Breslautamm.

Hygienisches Institut Kiel:

Agar: Große saftige Kolonien; keine Schleimwallbildung auf Agar.

Neutralrotagar: Gasbildung; Verfärbung.

Lakmusmolke: Rot; trübe; Umschlag nach 2 Tagen.

Indolprobe: negativ.

Sternbouillon: —.

Rhamnosemolke: Rot.

Raffinoseagar: —.

Mäusefütterungsversuch: Maus bleibt gesund.

Serologisch: Schottmüller-Serum — (Endtiter 1:50000)

Breslau- „ — („ 1:20000)

Gärtner- „ — („ 1:50000)

Suipestifer- „ — („ 1:100000)

Auf Grund dieses Verhaltens ist der Stamm nach Ansicht des Hygiene Institut Kiel ein *Bacterium Coli imperfectum*.

Medizinaluntersuchungsamt am Hygienischen Institut Königsberg i. Pr.:

Agar: Keine Schleimwallbildung.

Neutralrotagar: Gasbildung, schwache Entfärbung.

Lakmusmolke: Rot, Umschlag nach 6 Tagen.

Sternbouillon: Rotviolett.

Rhamnosemolke: Rot.

Raffinoseagar: Keine Knöpfchenbildung.

Mäusefütterungsversuch: Mäuse blieben gesund.

Serologisch: Schottmüller-Serum — (Endtiter 1: 4000)

Breslau- " — (" 1: 6000)

Gärtner- " — (" 1: 4000)

Suipestifer " 1: 6400 " 1: 10000)

Voldagsen- " —

Das M. U. A. hält den Stamm auf Grund des Untersuchungsergebnisses für einen atypischen Suipestifer.

Tabellarische Uebersicht der Ergebnisse

Untersuchungs- stelle	Agar (Schleimwall- bildung)	Neutralrotagar	Lackmusmolke	Indol- probe	Stern- bouillon
Prof. G. im R.G.A.	negativ	—	rot	—	rot-violett
Hyg. Inst. Kiel	negativ	Gasbildung, Ver- färbung	rot, trübe; Umschlag nach 2 Tagen	negativ	—
Med. U.-Amt am Hyg. Inst. Königsberg	negativ	Gasbildung; schwache Ent- färbung	rot; Umschlag nach 6 Tagen	negativ	violett-rot
Wehrkreis- laboratorim I	angedeutet (so- fort nach der Herauszüchtung)	Gasbildung; Ent- färbung	rot; trübe; Umschlag nach 2 Tagen	—	purpur- violett

Auswertung.

1) Infektionsquelle.

Kann das Hammelfleisch an der Vergiftung schuld sein?

Es handelt sich von den Angaben des Erkrankten abgesehen um frisches, äußerlich von allen als einwandfrei befundenes Hammelfleisch vom Schlachthof. Die Möglichkeit, daß in dem einwandfrei aussehenden Fleisch eines bei der Fleischschau als gesund befundenen und freigegebenen Tieres Paratyphuserreger enthalten sein können, wird in der Literatur zugegeben und leuchtet auch ohne weiteres ein, wenn man sich die zahlreichen Möglichkeiten vergegenwärtigt, durch die eine Infektion des Fleisches intra vitam vom Darm her erfolgen kann. Nehmen wir an, daß dieser Truppenteil ein so mit Paratyphuserregern infiziertes Hammelfleisch empfangen hat. Bei dieser Annahme könnte als wahrscheinlich angesehen werden, daß sich beim Anfassen des Fleisches vor dem ersten Kochen dieser oder jener vom Küchenpersonal hätte infizieren müssen. Dagegen läßt sich sagen, daß erfahrungsgemäß bei Fleischvergiftungen

Infektionen beim Zubereiten des betr. Nahrungsmittels sehr häufig, wenn nicht meistens, ausbleiben. Es wäre also denkbar, daß in dem Hammelfleisch Paratyphusbakterien enthalten waren auch ohne daß eine Infektion durch das Zubereiten des Fleisches bei dem Küchenpersonal beobachtet worden ist. Bei dieser Annahme wäre also das bakterienhaltige Fleisch unzerkleinert zunächst gekocht worden. Bei dem Kochprozeß erfährt das Innere großer Fleischstücke eine Temperatur von höchstens 60—70°. Diese Erhitzung vermögen resistente Paratyphusstämme zu überdauern.

Nach diesem ersten Kochprozeß hat der erkrankte Soldat als einziger von dem Fleisch gegessen, das dann in kleine Stücke geschnitten und mit Kohl und Kartoffeln noch einmal gekocht wurde. Bei diesem zweiten Kochprozeß ist die Temperatur in den kleinen Fleischstückchen sicher erheblich über 70° gestiegen, so daß angenommen werden kann, daß dabei etwa vorhanden gewesene noch lebensfähige Paratyphuserreger abgetötet worden sind. Hieraus würde es sich erklären lassen, daß von den anderen Küchenteilnehmern keiner eine Infektion davongetragen hat.

von den 4 Untersuchungsstellen.

Rhamnosemolke	Raffinoseagar	Mäusefütterungsversuch	Schottmüller-serum	Breslauer-serum	Gärtner-serum	Suipestifer-serum	Vol-dagsen-serum
rot	keine Knöpfchen	Maus gesund	1:800 +	1:3200 +	1:100 +	1:3200 + 6400 ±	
rot	—	Maus gesund	1:0	1:0	1:0	1:0	
rosa	keine Knöpfchen	Mäuse gesund	1:0	1:0	1:0	1:6400 +	1:0
rot	keine Knöpfchen	2 Mäuse tot	1:3200 +	1:100 +	1:0	1:1600 +	1:200 +

Eine zweite Frage ist es, ob das von den gefundenen Erregern gebildete Gift (Intoxikationserscheinungen standen im Vordergrund des klinischen Bildes) die zweimalige Erhitzung nicht hätte überdauern müssen, da es sich um einen Angehörigen der Paratyphusgruppe handelt, der aus Stuhl und Erbrochenem des Erkrankten isoliert worden ist, deren Gifte erfahrungsgemäß sehr hitzeresistent sein können. Hierauf kann man erwidern, daß es sich um einen atypischen Vertreter der Paratyphusgruppe gehandelt hat, dessen Stoffwechselgifte wohl die erste Erhitzung (im Innern nur 60—70°) aber nicht die zweite (wahrscheinlich 80—100°) ausgehalten haben und daß auch die Stoffwechselgifte der typischen Fleischvergifter verschieden resistent gegen Hitzeeinwirkung sind.

Auf Grund dieser Erwägungen muß die Frage, ob es möglich ist, daß in diesem Falle das Hammelfleisch bei dem Soldaten die Vergiftung bewirkt hat, mit ja beantwortet werden. Die Wahrscheinlichkeit, daß solche Fälle vorkommen, ist dagegen gering, da viele Momente zusammentreffen müssen, um eine solche Einzelvergiftung in einer großen Truppenküche herbeizuführen. Das Bestehen der Möglichkeit darf nicht dazu führen, das Hammelfleisch in

diesem Falle als sichere Ursache anzunehmen. Es steht nicht fest, ob und was der Soldat im Lokal der Stadt vorher genossen hat, welcher Art Wurst- und andere Waren gewesen sind, die er sich in den letzten Tagen zugekauft und genossen hat. Immerhin ist auch bei diesen Berücksichtigungen zu bedenken, daß es eine große Seltenheit wäre, wenn zur selben Zeit nur eine Person an einer so schweren Fleischvergiftung in der betreffenden Stadt erkrankte. Dem Kreisarzt ist in der fraglichen Zeit nämlich kein weiterer Fall gemeldet worden; auch sonst ist in der Presse nichts verlautbart. In den feilgehaltenen Handelswaren der Schlachter, Bäcker und Gastwirtschaften werden im allgemeinen Paratyphuserreger oder ihre Gifte in mehreren gleichartigen Objekten, aber für gewöhnlich nicht nur in einem einzigen vorhanden sein. So kommt man auch bei diesen Gedankengängen letzten Endes auf das Hammelfleisch als Ursache der Vergiftung zurück.

Nicht unberücksichtigt darf in diesem Falle schließlich der Sektionsbefund bleiben. Außer den für eine Fleischvergiftung sprechenden Veränderungen wurde eine chronische Tracheitis und Bronchitis festgestellt. Es muß als möglich angesehen werden, daß auch die Degenerationserscheinungen am Herzmuskel nicht nur auf die Intoxikation zurückzuführen sind. Bronchitis und Herzmuskelschwäche würden das von den Kameraden bemerkte leichte Schwitzen und Krankaussehen vor der Vergiftung genügend erklären; sie sind vielleicht der Grund für die Schwere der Erkrankung und ihren tödlichen Ausgang. Die Paratyphuserreger und ihre Gifte, denen ein gesunder Organismus in diesem Falle vielleicht widerstanden hätte, fanden in dem wenig widerstandsfähigen Körper günstige Angriffspunkte.

2) Art des Erregers.

Das kulturell biologische Verhalten des isolierten Bakteriums ist in den 4 Untersuchungsstellen ungefähr das gleiche. Der Mäusefütterungsversuch war im Wehrkreislaboratorium I positiv, während er bei den anderen 3 Untersuchern negativ war. Wegen der verschiedenen Empfindlichkeit der Mäuse gegen gleichartige und gleichgiftige Krankheitskeime wird der Mäusefütterungsversuch im allgemeinen nicht mehr als ausreichend zur Unterscheidung bestimmter Bakterien anerkannt. Deshalb kann auch hier darauf verzichtet werden, diesem Unterschied besondere Bedeutung beizumessen. Erwähnt sei nur der Vollständigkeit halber, daß im Wehrkreislaboratorium I der erste Mäusefütterungsversuch mit dem frisch aus dem Stuhl und Erbrochenem gezüchteten Stamm angesetzt wurde, der zweite mehrere Wochen später, nachdem der Stamm zuvor durch Hackfleisch, das als frei von Paratyphuskeimen befunden worden war, geschickt und dadurch „aufgefrischt“ war. Es ist möglich, daß hierdurch der verschiedene Ausfall der Mäusefütterungsversuche im Wehrkreislaboratorium gegenüber den anderen 3 Untersuchungsstellen erklärt wird.

Das übereinstimmende kulturell biologische Verhalten spricht also für einen Breslautyp. Zu diesem Typ würde auch der positive Ausfall des Mäusefütterungsversuches im Wehrkreislaboratorium I mit dem frisch aus dem Erbrochenen gezüchteten Stamm gut passen.

Durchaus verschieden in den 4 Untersuchungsstellen ist aber das agglutinatorische Verhalten der verschiedenen Seren gegenüber dem Stamm.

Hygienisches Institut Kiel: Mit keinem von 4 Seren eine Agglutination.
Med. Unt.-Amt Königsberg: nur mit Suipestiferum bis 6400 +.

Prof. G. im R. G. A. Suipestiferum 6400 ±, Breslauserum 3200 +, Schottmüller-Serum 800 +.

Wehrkreislaboratorium I: Schottmüller-Serum 3200 +, Suipestifer-serum 1600 +.

Hierzu ist zu bemerken: Die Untersuchungen wurden von Prof. G. im R. G. A., vom Hygienischen Institut Kiel und Med. Unt.-Amt in Königsberg mit einer annähernd gleich alten Kultur angestellt. Wiederholte Untersuchungen im Medizinaluntersuchungsamt Königsberg und Wehrkreislaboratorium I mit Zeitbeständen von mehreren Wochen haben ergeben, daß der Stamm sich agglutinatorisch nicht wesentlich geändert hat. Für das verschiedene Verhalten in den 4 Untersuchungsstellen kann somit verschiedenes Alter des benutzten Stammes nicht als Grund angeführt werden. In diesem Falle kann der Grund für den unterschiedlichen Ausfall der Agglutination demnach nur in der Verschiedenheit der benutzten agglutinierenden Seren gesucht werden, und zwar wahrscheinlich allein in der Verschiedenheit ihrer Wertigkeit. An der Eindeutigkeit der Stämme, mit denen die Seren hergestellt worden sind, wird in keiner Weise gezweifelt. Es sind die Fragen berechtigt:

1) Bleiben die Urheber so vieler Lebensmittelvergiftungen deshalb unbekannt, weil die einzelnen Untersuchungsstellen mit ganz verschiedenwertigen agglutinierenden Seren arbeiten?

2) Muß nicht Stuhl, Urin und Blut in allen bakteriologischen Untersuchungsstellen grundsätzlich neben Typhus, Schottmüller, Gärtner, Breslau und Suipestifer auch auf Voldagsen untersucht werden? (Es sei nur an die Voldagseninfektion nach Schweinefleischgenuß erinnert, die Pieper aus dem Hauptgesundheitsamt Berlin erwähnt).

Beide Fragen sind zu bejahen.

Zur Frage 1) ist zu bemerken, daß die einen Institute mit monovalenten, andere mit polyvalenten Seren arbeiten. Welche benutzen Seren mit außerordentlich hohen Endtitern, andere begnügen sich mit solchen, deren Endtiter niedrig sind, beginnen aber die Agglutinationsreihe auch mit der Verdünnung 1:100. Dieser benutzt zur Gewinnung agglutinierender Seren fast ausschließlich eigene Sammlungsstämme, jener läßt sich von anderen Instituten einwandfreie Stämme schicken und verwertet diese zusammen mit den eigenen. Da muß es manchenmal vom Zufall abhängen, ob ein nicht ganz typischer Krankheitserreger der Paratyphusgruppe als solcher oder als Saprophyt angesprochen wird, je nachdem die Agglutination mehr positiv oder negativ ausfällt.

Zur Frage 2) ist zu sagen, daß bei Nichtverwendung eines alle Paratyphusarten umfassenden „Arbeitsserums“ nichts übrig bleibt, als grundsätzlich von jeder verdächtigen Kolonie mit allen in Frage kommenden Seren, also auch dem Voldagsenserum, Probe- bzw. große Agglutination anzusetzen, will man sich nicht der Möglichkeit begeben, möglichst alle Krankheitserreger der Paratyphusgruppe zu erfassen.

In dem Referat von Uhlenhuth auf der 11. Mikrobiologentagung 1925 wurde der Suipestifer noch für apathogen gehalten. Seitdem in letzter Zeit bei Nahrungsmittelvergiftungen auf ihn mehr geachtet wird, hat er an Bedeutung gewonnen. Ähnlich ist es mit dem Voldagsen und anderen Abarten. In seiner Arbeit „Paratyphusepizootien als Ursprungsquellen von Paratyphusepidemien“ 1926 (Centralbl. f. Bakt. I. Bd. 99) bezeichnet Müller sowohl den Suipestifer als auch den Voldagsen mit bipathogen. Hiermit komme ich zur Schlußfrage

3) Ist es nicht an der Zeit, staatlicherseits die Verwendung eines umfassend polyvalenten agglutinierenden Serums in allen staatl. bakt. Laboratorien zu fordern, das möglichst alle agglutinatorisch verschiedenen, auch atypischen Vertreter der Paratyphusgruppe erfaßt? — Für die Praxis ist es zunächst gleichgültig, ob an der Intoxikation oder Infektion ein Schottmüller, Breslau, Gärtner, Suipestifer, Voldagsen usw. schuld ist; der Praktiker und

beamtete Arzt oder Tierarzt legt Wert darauf, zu wissen: Sind hier Bakterien die Schuldigen, welcher Gruppe gehören sie an und wo kommen diese her?! Deshalb ist nach meinem Dafürhalten die Verwendung eines einheitlichen, staatlich kontrollierten, umfassend polyvalenten Paratyphusserums neben den verschiedenen Typenserum besonders für die kleinen bakteriologischen Untersuchungsstellen praktisch von außerordentlichem Wert, wertvoll vor allem auch dadurch, daß die bakteriologischen Untersuchungsstellen zunächst einmal nur mit diesem einen Serum zu arbeiten haben. Wird ein aus dem eingesandten Material herausgezüchteter Stamm von ihm agglutiniert, dann kann weiter untersucht werden, ob es sich um einen Schottmüller, Breslau- usw. stamm handelt.

Die Hauptsache ist aber wie gesagt, daß zur Gewinnung eines solchen polyvalenten Serums auch atypische Stämme nach Art des oben beschriebenen benutzt werden, die biologisch und agglutinatorisch einwandfrei zu dieser Gruppe gehören, wenn sie auch serologisch zu einem, kulturell-biologisch zum anderen Typ zu rechnen sind.

Auf die Zweckmäßigkeit eines solchen polyvalenten Paratyphusserum hat bereits Gildemeister auf der 11. Tagung der deutschen Vereinigung für Mikrobiologie 1925 in einer Diskussionsbemerkung hingewiesen (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 97. 1926. S. 327*), indem er u. a. sagte: „Ein solches Serum wird im Untersuchungsamt die besten Dienste leisten, da es keinen fraglichen Stamm entgehen läßt.“ Das Reichsgesundheitsamt hält ein solches Serum ständig vorrätig. Die Forderung, daß dasselbe oder ein gleichwertiges in den staatl. bakt. Laboratorien als „Arbeitsserum“ vor allen anderen benutzt wird, erscheint im Interesse der Seuchenbekämpfung im allgemeinen und der Paratyphusforschung im besonderen für berechtigt. Was für ein schweres Krankheitsbild auch die atypischen Vertreter der Paratyphusgruppe bewirken können, hat der hier beschriebene Fall wieder deutlich gezeigt. Je mehr von diesen atypischen Stämmen durch ein geeignetes Serum erfaßt werden, um so eher werden wir vielleicht in die Lage versetzt, dem Grundübel beizukommen und die Quelle für derartige Lebensmittelvergiftungen zu verstopfen.

Nachdruck verboten.

Zur Aetiologie der epidemischen Grippe.

[Aus dem Mikrobiologischen Institut der Nord-Kaukasischen Staatsuniversität
(Direktor: Prof. Dr. M. Stutzer).]

Von Dr. **N. G. Klujewa** und Dr. **A. A. Kaschajewa**.

Der im Jahre 1892 von Pfeiffer entdeckte B. influenzae erhielt in den ersten darauffolgenden Jahren von seiten vieler Autoren volle Anerkennung: Richter und Borchardt, Canon und Kitasato, Besançon, Chantemesse, Fromme, Metschnikow u. a. Während der hierauf folgenden Epidemien der Grippe erschienen sodann Arbeiten, in denen ein Teil der Autoren die ätiologische Rolle des von Pfeiffer entdeckten Mikroben leugnen, indem sie sich auf die negativen oder den geringen Prozentsatz der positiven Resultate bei der bakteriologischen Sputumuntersuchung stützen (Dick, Gruber, Selter, Mandelbaum, Schottmüller), während die anderen die Rolle der

Krankheitserreger verschiedenen Kokken aus der Mikroflora des Sputums zuschreiben, hauptsächlich den Pneumokokken und Streptokokken, entweder in Verbindung mit dem *B. influenzae*, oder selbständig ohne denselben (Isabolinsky und Judenitsch). Scheller sieht im *B. influenzae* nur den Erreger der epidemischen Grippe, da er denselben in der epidemiefreien Zeit nicht beobachten konnte. Sahli, Strümpel, Huchardt vertreten die Ansicht, daß als Erreger der grippösen Erkrankungen alle Mikroben des Sputums der an Grippe Erkrankten angesehen werden müssen. Kristensen und Hübschmann halten den *B. influenzae* für einen der unschädlichen Saprophyten der Luftwege. Pfeiffer selbst sprach sich im Jahre 1922 über die ätiologische Rolle des *B. influenzae* in dem Sinne aus, daß die Influenza an und für sich das Leben des Patienten wenig gefährde, und daß der tödliche Ausgang der Krankheit durch die Komplikationen bedingt sei, besonders häufig durch eine sekundäre, durch Staphylo-, Strepto- und Pneumokokken hervorgerufene Pneumonie. Hierbei trete der den Kokken den Weg bahnende Erreger der Grippe mehr oder weniger in den Hintergrund oder werde sogar gänzlich von ersteren erstickt.

Im letzten Dezennium ist eine neue Theorie über das filtrierbare Virus erschienen. Zuerst von Kruse und Foster zur Erklärung für das Entstehen leichter katarrhalischer Infektionen vorgeschlagen, wurde sie sodann unter Anwendung auf die Grippe von Ch. Nicoll und Lebailly experimentell bearbeitet.

Olitsky und Gates haben den von ihnen aus dem Filtrat des Nasen-Rachenraumsekrets isolierten gramnegativen, an der Grenze des Sichtbaren stehenden *Bac. pneumosintes* beschrieben.

Im Laufe einer 5jährigen Erforschung wurden von diesen Autoren 16 Stämme dieses Mikroben gezüchtet. 5 von ihnen während der Epidemie in den Jahren 1918—19, die übrigen 11 in den folgenden Jahren. Das Serum der an Grippe Erkrankten agglutinierte den *B. pneumosintes* in einer Verdünnung von nicht mehr denn 1:32, die Autoren halten jedoch schon einen Titer von 1:8 für beweiskräftig. Die englische Schule (Gibson und seine Mitarbeiter) hat bei der Grippe ebenfalls einen filtrierbaren Mikroben isoliert, jedoch wird derselbe in ihren Experimenten als grampositiv beschrieben.

In der Lehre von der Aetiologie der Grippe herrschen somit zwei ganz entgegengesetzte Ansichten: die Pfeiffersche Theorie und die Theorie des filtrierbaren Virus. Alle übrigen Theorien schließen sich mehr oder weniger diesen beiden an.

Untersuchungsmethodik.

Da die Theorie von Pfeiffer in der Wissenschaft die am meisten begründete ist, so kann die Frage über die Aetiologie der Grippe vorläufig im Sinne der Anerkennung oder Nichtanerkennung des Pfeifferschen Bazillus als den eigentlichen Erreger dieser Krankheit betrachtet werden. An die Untersuchung der an Grippe Erkrankten gingen wir daher in erster Linie vom Standpunkte einer Bewertung der ätiologischen Rolle des *B. influenzae* im Krankheitsprozesse grippösen Charakters heran. Um den für die Züchtung des *B. influenzae* geeignetsten Nährboden ausfindig zu machen, wurde von uns vorläufig folgender Versuch angestellt: Vorbereitung von 1) Levinthal-Agar, 2) Agar mit hämolysiertem Menschenblut, 3) mit defibriertem Menschenblut, 4) Agar mit Kaninchen-, Meerschweinchen- und Hammelblut. Zum Versuch wurde 2, 2½ und 3proz. Agar verwendet. Hierauf wurde auf jedem dieser Nährböden eine Aussaat aus dem Sputum von 2 Kranken gemacht, welches

zweifelloos den *B. influenzae* enthielt. Die besten Resultate gab die Aussaat auf Levinthal-Agar, dann auf Agar mit hämolysiertem Menschen- und Kaninchenblut. Hierbei erwies sich die Konsistenz von 2½proz. Agar als die am meisten geeignete. Die Kolonien des *B. influenzae* erreichten auf diesen Nährböden einen Durchmesser von 3 mm und waren bei reichlichem Wachstum isoliert gelagert. In den Ausstrichpräparaten lieferte der *B. influenzae* das charakteristische Bild der Kokkobazillen mit Polarfärbung. Auf denselben Nährböden mit Meerscheinenblut überstiegen die Kolonien des *B. influenzae* nicht den Durchmesser von 1 mm, wobei sie auf Levinthal-Agar reichlicher wuchsen. In den mikroskopischen Präparaten wurden inmitten der allgemeinen Masse der typischen Kokkenbazillen hin und wieder fadenförmige Formen angetroffen. Noch kleinere und spärlichere Kolonien gab der *B. influenzae* auf den Nährböden mit Hammelblut, wobei auf Agar mit hämolysiertem Blut nur die Aussaat von einem Kranken Wachstum ergab. Diese Kolonien waren klein und ausschließlich in der Umgebung der Kolonien von Strepto-, Pneumo- und Staphylokokken gelagert. Die mikroskopische Untersuchung ergab unter den charakteristischen Formen der Bazillen ebenfalls eine bedeutende Anzahl fadenförmiger. Der Zusatz von defibriertem Blut zum Agar ergab ungünstige Resultate. Die Kolonien des *B. influenzae* erwiesen sich als fast punktförmig und waren nur in der Wachstumszone der Strepto-, Staphylo- und Pneumokokken gelegen. Bei der mikroskopischen Untersuchung prävalierten die fadenförmigen Formen des Mikroben. Auf Agar mit defibriniertem Hammelblut gab der *B. influenzae* überhaupt kein Wachstum.

Bei der weiteren Arbeit benutzten wir stets parallel: Levinthal-Agar und Agar mit hämolysiertem Kaninchen- oder Menschenblut. Hierbei muß bemerkt werden, daß wir in 2 Fällen trotz positiver bakterioskopischer Untersuchung kein Wachstum des *B. influenzae* auf Levinthal-Agar mit Kaninchenblut beobachten konnten. Levinthal, Kuczynski und andere Autoren konnten ebenfalls ähnliche Beobachtungen machen. Levinthal spricht die Vermutung aus, daß in solchen Fällen die übermäßige Erhitzung des Agars während der Zubereitung des Nährbodens eine Rolle spielt. Wir nahmen daher erneut Blut von demselben Kaninchen und zur Kontrolle von einem anderen, fügten dieses, 5proz., dem Agar hinzu und kochten einen Teil davon 5 Min., den anderen 10 Min. lang, und machten eine erneute Aussaat aus dem Sputum desselben Patienten. Auf dem Blute des Kontrollkaninchens erhielten wir reichliches Wachstum der Kolonien des *B. influenzae* sowohl auf dem Agar, welcher 5 Min., als auch auf dem, der 10 Min. gekocht worden war, während mit dem Blute des ersten Kaninchens wiederum kein Wachstum beobachtet werden konnte. Folglich schädigt die Ueberhitzung des Agars, wenn sie gewisse Grenzen nicht übersteigt, das Wachstum des *B. influenzae* nicht. Das Fehlen des Wachstums muß im gegebenen Falle scheinbar den individuellen Eigenschaften des Blutes zugeschrieben werden.

Im Laufe der weiteren Arbeit hatten wir Gelegenheit, folgende Erscheinung zu beobachten: Alle Stämme des *B. influenzae*, von denen eine Aussaat auf Levinthal-Agar mit dem Blute bestimmter Individuen gemacht worden war, gaben ein äußerst üppiges Wachstum, während ihr Wachstum auf dem Blute anderer ein spärliches war, in Gestalt von kleinen, nicht zahlreichen Kolonien, trotzdem die Technik der Zubereitung der Nährböden immer dieselbe war. Dieselbe Erscheinung vermerkt auch Levinthal selbst, indem er auf den Umstand hinweist, daß das Blut eines Hammels, der zwecks Ausführung der WaR. einer häufigen Blutentnahme unterworfen wird, seine nutritiven Eigenschaften einbüßt und für die Züchtung des *B. influenzae* untauglich wird.

Bei der Untersuchung des Sputums der an Grippe Erkrankten muß der Zeitpunkt der Erkrankung in Betracht gezogen werden. Bei unseren Beobachtungen gab der *B. influenzae* in 3 Fällen von 5 Untersuchungen des Sputums am 2. Tage der Krankheit kein Wachstum. Die nach Verlauf von 4 Tagen seit Beginn der Erkrankung wiederholt ausgeführte Aussaat aus dem Sputum dieser Patienten gab dagegen ein positives Resultat.

In den Fällen von komplizierter Grippe kann der *B. influenzae* zuweilen verhältnismäßig schnell, im Laufe von 2—3 Wochen, von den Schleimhäuten verschwinden. Bei 2 Patienten mit der Diagnose Lungengangrän und bei 2 mit grippöser Pneumonie ergab die in der 2.—3. Woche aus dem Sputum gemachte erste Aussaat das Vorhandensein des *B. influenzae*. Nach 10—12 Tagen zeigte die erneut vorgenommene Aussaat ein negatives Resultat. Bei den Kontrollversuchen gelang es bei diesen Kranken ebenfalls nicht, eine Züchtung des *B. influenzae* zu erzielen.

Janagisawa gibt für diese Erscheinung folgende Erklärung: Der *B. influenzae* aktiviert die anderen Mikroben der Luftwege, und diese gewinnen bei ihrer Vermehrung das entschiedene Uebergewicht über den ersteren. Derselben Ansicht sind Dietrich, Schmid, Wilson und Steer.

Die Aussaat des zu untersuchenden Materials muß in den ersten Stunden nach Entnahme vom Patienten ausgeführt werden. Nach den Beobachtungen Schellers kann unter diesen Bedingungen ein Wachstum des *B. influenzae* in 100 Proz. derjenigen Fälle beobachtet werden, in denen letzterer sich im Untersuchungsmaterial befindet, bei einer Aussaat nach Verlauf von etlichen Stunden — in 50 Proz., nach 24 Std. — in 10 Proz.

Außerdem muß die Aussaat 2, 3 Tage lang im Brutschrank aufbewahrt werden, besonders in zweifelhaften Fällen. Nach 2—3tägigem Wachstum werden die Kolonien des *B. influenzae* größer und treten schärfer inmitten der Kolonien anderer Mikroben hervor.

Die bakterioskopische und bakteriologische Untersuchung des Sputums der an Grippe Erkrankten. Der Einfluß verschiedener Mikroben auf das Wachstum des *B. influenzae*.

Insgesamt wurden von uns 42 Patienten — Rachenschleim und Sputum — untersucht. Unter ihnen 32 mit der Diagnose: grippöse Pneumonie, 7 unkomplizierte Grippe und 3 Lungengangrän nach Grippe.

Der Pfeiffersche Bazillus wurde in 86,5 Proz. der Fälle isoliert. Wenn wir alle untersuchten Fälle nach dem klinischen Verlauf in unkomplizierte und komplizierte einteilen, so finden wir den *B. influenzae* unter den ersteren in 100 Proz. Unter den 35 Patienten mit komplizierten Krankheitsprozessen wurde der *B. influenzae* bei 29, d. h. in 82,8 Proz. der Fälle gefunden.

Die bakterioskopische Untersuchung der Präparate des Sputums lieferte selten das typische, von Pfeiffer beschriebene Bild. Nur in 4 Fällen konnten wir den *B. influenzae* in großer Menge und in charakteristischer Form beobachten. Häufiger wurden bei der bakterioskopischen Untersuchung nur einzelne Bakterien angetroffen, während in 6 Fällen ein positives Resultat erst bei der Aussaat aus dem Sputum erzielt werden konnte.

Auf der Oberfläche des Nährbodens gab der *B. influenzae* 2 Typen von Kolonien: durchsichtige, farblose, mit leicht abgeplatteter Oberfläche, runde, mit einem Durchmesser von 1—3 mm, und einen 2. Typus, der sich vom ersteren durch geringe Durchsichtigkeit, welligen Rand und eine Erhöhung im Zentrum unterschied. Die Kolonien des 2. Typus wurden bedeutend seltener angetroffen und konnten erst am 2. Tage des Wachstums entdeckt werden. In 1 Falle

ergab die Aussaat aus dem Sputum beide der erwähnten Typen von Kolonien, bei der Ueberimpfung ging der 2. Typus jedoch in den 1. über.

Dem äußeren Aussehen nach sind die Kolonien des *B. influenzae* auf Levinthal-Agar den Kolonien des *Micr. catarrhalis* sehr ähnlich. Sie unterscheiden sich von den letzteren dadurch, daß sie sich weniger über die Oberfläche des Nährbodens erheben und nicht solchen Glanz besitzen.

Während der *B. influenzae* auf dem Levinthal-Nährboden in Form von isolierten Kolonien wächst, lagern sich die Kolonien auf Agar mit defibriertem Blut nicht nur von Tieren, sondern auch vom Menschen, fast ausschließlich in der Wachstumszone der Strepto-, Pneumo- und Staphylokokken. Dieses zuerst von Grassberger bemerkte „Ammenphänomen“ kann dadurch erklärt werden, daß der von Natur aus anspruchsvolle *B. influenzae* für sein Wachstum im Nährboden die Anwesenheit besonderer Substanzen „x“ und „y“ erfordert, deren chemische Natur noch unbekannt ist. Es wird die Vermutung ausgesprochen (Pfeiffer, Ghon, Preyss, Davis), daß das Molekül der thermostabilen Substanz „x“ Eisen enthält, während die thermolabile Substanz „y“ den Vitaminen nahesteht. Diese Substanzen befinden sich in bedeutender Menge im Blute, die „x“-Substanz ist außerdem ebenfalls in den Pflanzenzellen (Kartoffel) vorhanden, die „y“-Substanz im Zellenleib der Hefepilze und anderer Bakterien.

Wie zuerst von Cantani, Luersen und Neisser angegeben wurde, ermöglicht die Anwesenheit vieler Bakterien das Wachstum des *B. influenzae* auf einfachem schwach-alkalischen Agar ohne Hinzufügen von Hämoglobin. Von uns wurde folgender Versuch angestellt: auf schwach-alkalischem Agar ohne Beimischung von Blut wurde eine Aussaat von folgenden Kulturen ausgeführt: 1) *Pneumococcus*, 2) *Streptococcus brevis*, 3) *Str. longus*, 4) *Staphyl. aureus*, 5) *Bac. Friedlaenderi*, 6) *Micr. catarrhalis*, 7) *M. candidus*, 8) *M. pharyngis siccus*.

Die Aussaat wurde in Petri-Schälchen durch parallele Striche in einem Abstände von $\frac{1}{2}$ cm ausgeführt, außerdem auch in Reagenzgläsern. Nach 24stünd. Wachstum bei Brutschranktemperatur wurden die Petri-Schälchen im Laufe von 3 Std. bei einer Temperatur von 60° durchwärmt, während die Reagenzgläser 10 Min. lang im Wasserbade gekocht wurden. Hierauf wurde auf diese Nährböden eine Aussaat einer *B. influenzae*-Kultur vorgenommen, wobei die Aussaat in den Petri-Schälchen zwischen den Strichen der gewachsenen Kolonien ausgeführt wurde. Nach Verlauf von 24 Stunden konnte ein Wachstum nur in den Petri-Schälchen konstatiert werden. Die Oberfläche des Nährbodens war in einer Entfernung von 2–5 mm von den ursprünglichen Strichen mit Kolonien des *B. influenzae* übersät, die desto kleiner waren, je mehr sie von den Strichen entfernt lagen.

Alle gezüchteten Mikroben übten einen günstigen Einfluß auf den Wuchs des *B. influenzae* auf einfachem schwach-alkalischen Agar aus, am günstigsten erwies sich in dieser Hinsicht jedoch die Symbiose des *B. influenzae* mit dem *Strept. brevis* und dem *Pneumococcus*.

Augenscheinlich produzieren viele Mikroben, welche Träger der „x“- und „y“-Substanzen sind, diese letzteren in die zunächst liegende Zone des Nährbodens, oder sie verändern vielleicht die physikalisch-chemische Beschaffenheit desselben derart, daß dadurch das Wachstum eines so anspruchsvollen Mikroben wie des *B. influenzae* auf einfachem Agar möglich wird.

Eine eingehende Untersuchung der Mikroflora des Sputums wurde von der Gesamtzahl der 42 an Grippe Erkrankten in 22 Fällen ausgeführt. In der Tabelle I sind die in jedem Falle gefundenen Mikroben, ihre Kombination und die Diagnose des untersuchten Patienten verzeichnet.

Nach dem Verlauf der Krankheit konnten wir folgende Einteilung beobachten: 6 Fälle von unkomplizierter Grippe, 13 Fälle grippöser Pneumonie und 3 von *Gangraena postgripposa*.

In 3 von den 22 Fällen fehlte der *B. influenzae*. Die übrigen Mikroben werden, wie wir sehen, in den allerverschiedensten Kombinationen angetroffen. Nur der *Strept. brevis* wird in der Regel in allen Aussaaten vorgefunden. Der *Pneumococcus* wurde von den 22 Fällen 17mal beobachtet. Die Mikrokokken, welche man in der Mundhöhle gesunder Personen beobachtet, werden im Sputum der an Grippe Erkrankten sowohl einzeln als auch in verschiedenen Kombinationen angetroffen.

Aus der Gruppe der pathogenen Mikroorganismen wurde 4mal der *Str. longus* konstatiert, 3mal *Str. sputigenus*, 5mal *Staph. aureus* und 5mal *B. Friedlaenderi*. Aus der Gruppe der Fäulnisbakterien wurde in 4 Fällen der *B. subtilis* und in 1 Falle einzelne Kolonien des *B. mesentericus* beobachtet. Von den Saprophyten schließlich, die aus der Luft in die Mundhöhle gelangen, wurden konstatiert: *Sarcina flava* (2 Fälle) und *Sarcina aurantiaca* (1 Fall).

Bei unseren Untersuchungen lenkte die Kombination des *B. influenzae* mit dem *B. Friedlaenderi* in den Fällen mit schweren, komplizierten Prozessen die Aufmerksamkeit auf sich. Wir beobachteten solche Assoziation bei 3 Patienten mit Lungengangrän nach Grippe und bei 2 mit schwerer grippöser Pneumonie. Der *B. Friedlaenderi* gab in der 1. Aussaat ein sehr üppiges Wachstum; bei der folgenden Untersuchung des Sputums konnte der *B. influenzae* schon nicht mehr ermittelt werden, während der *B. Friedlaenderi* fast in Reinkultur zu wachsen fortfuhr.

Im übrigen stellte das Sputum der an Grippe Erkrankten nichts Charakteristisches dar.

Morphologie, serologische und biochemische Eigenschaften des *B. influenzae*.

Bei unseren Untersuchungen waren von uns 6 Stämme des I. Typus, 27 des II., 2 des III. und 1 des IV. Typus gezüchtet worden.

Somit war der II. Typ der vorherrschende. Die Kulturen des III. Typus gingen sehr schnell zugrunde: eine nach 3 Tagen (2. Generation), die 2. Kultur ging nach 2 Verimpfungen in den Ausgangstypus über und ging nach 2 Wochen ebenfalls zugrunde; der IV. Typus wurde nur 1mal angetroffen.

Außerst variabel in bezug auf seine morphologischen Eigenschaften, kann der *B. influenzae* die eine oder andere morphologische Form annehmen, je nach dem Nährboden, oder richtiger, in Abhängigkeit von den Eigenschaften des dem Nährboden hinzugefügten Blutes, worauf von uns oben schon hingewiesen wurde. Insoweit der Uebergang des einen Typus in den anderen möglich ist, spielt die Klassifikation der einzelnen Rassen des *B. influenzae* auf Grund ihrer morphologischen Merkmale für die Charakteristik der Eigenschaften des Mikroben keine wesentliche Rolle. In eine besondere Rubrik müssen nur die hämolytischen Stämme des *B. influenzae* eingetragen werden.

Zur serologischen Differenzierung der einzelnen Stämme wurde agglutinierendes Serum angewandt, welches bei der Immunisierung von Kaninchen mit Kulturen des *B. influenzae* gewonnen wurde.

Die Frage nach der Immunisierung der Tiere muß als vollständig unbearbeitet angesehen werden. Die Literaturangaben sind äußerst mannigfaltig und widersprechend, sowohl in bezug auf die Immunisierungsmethoden als auch in bezug auf die beobachteten Resultate. Cantani erhielt bei Hunden ein

agglutinierendes Serum mit einem Titer von 1:10000, Kristensen bei Kaninchen von 1:1600, Odaira konnte im Serum immunisierter Tiere überhaupt keine Agglutinine feststellen.

Bei der Wahl des Agglutinogens hielten wir uns an den polyvalenten Stamm Nr. 18. Dieser Stamm wurde aus dem Gehirn eines Menschen gezüchtet, der infolge einer grippösen Meningitis ad exitum gekommen war. Für den Menschen äußerst virulent, erwies er sich auch für die Tiere als pathogen. 200 Millionen Mikroben töteten weiße Mäuse im Laufe von 18 Stunden.

Die allgemeine schwache pathogene Eigenschaft des *B. influenzae* für Tiere in Betracht ziehend, vermuteten wir, daß der am meisten pathogene Stamm auch die am schärfsten ausgeprägten antigenen Eigenschaften besitzen müsse.

Zur Immunisierung wurde die 24stünd. Agarkultur in physiol. NaCl-Lösung emulgiert, im Laufe 1 Std. bei 60° erhitzt und dann jeden 4. Tag dem Kaninchen intravenös einverleibt. Das 1. Mal wurden 5 Milliarden abgetöteter Mikroben eingeführt. Des weiteren wurde die Dosis jedesmal um 1 Milliarde erhöht. Die Immunisierung wurde im Laufe eines Monats durchgeführt. 8 Tage nach der letzten Injektion zeigte das Kaninchenserum agglutinierende Eigenschaften in einer Verdünnung von 1:1500.

Tabelle I.

Nr.	Diagnose	B. J.	Str. br.	Pneumoc.	Mier. cat.	M. cand.	M. fl.	M. phar. sic.	M. albus.	M. aur.	M. ros.	Staph. alb.	St. aur.	Str. long.	Str. sput.	D. cras.	M. min.	B. Fr.	B. ps.-d.	B. subit.	B. mes.	Sarc. fl.	Sarc. aur.
1	Lungengangrän	+	+	+	+	.	+	+	+	+
2	"	+	+	+	+	.	+	+	+
3	"	+	+	+	+	+	+	+	+	.	.	.	+
4	Grippe	+	+	+	.	+	+	+	+	.	.	+
5	"	+	+	+	.	.	+	+	+
6	"	+	+	+	+	+	+	.	+
7	"	+	+	+	+	.	.	.	+	+	.	.
8	"	+	+	+	.	.	.	+	+	.	.
9	"	+	+	+	.	.	+	+	.	.	.	+	+	.	+
10	Pneum. gr.	+	+	.	.	+	+	+	+	+
11	" "	—	+	+	.	.	+	+	+	.	.	+	+
12	" "	—	+	+	+	.	+	+
13	" "	+	+	+	.	.	+	.	.	+	.	.	+	+	.	.	.
14	" "	+	+	+	.	.	+	+	.	.	+	.	.	.
15	" "	+	+	+	.	.	.	+	+	+	+
16	" "	+	+	+	.	.	+	+	+	.
17	" "	+	+	.	+	+	.	+	.	+	+	.	.	.
18	" "	+	+	.	+	.	+	.	.	.	+	+
19	" "	+	+	+	.	.	+	+	+
20	" "	+	+	+	+	.	+	+	+	+
21	" "	+	+	.	+	.	+	+	+	.	+
22	" "	—	+	+	+	.	+	+	+
		19	22	17	11	4	15	6	3	2	2	9	5	4	3	6	7	5	3	4	1	2	1

Das gewonnene Serum konservierten wir mit Phenol und verwendeten es im folgenden zur serologischen Differenzierung von 24 Stämmen des *B. influenzae*. Von letzteren waren 5 aus dem Sputum von Patienten mit unkomplizierter Grippe gezüchtet worden, 9 mit grippöser Pneumonie, 2 mit Lungengangrän nach Grippe, 1 aus dem Gehirn eines an grippöser Meningitis

gestorbenen Patienten, 1 aus dem Sputum eines an experimenteller Grippe Erkrankten und 6 von tuberkulösen Kranken. Die Zusammenstellung der Resultate ist in Tabelle II gegeben.

Tabelle II.

Nr.	Diagnose	200	300	400	500	600	700	800	900	1000	1500
1	Grippe	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	"	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3	"	+	+	+	+						
4	"	+	+	+	+	+					
5	"	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6	Exper. Grippe	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7	Pneum. Grippe	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8	dgl.	+	+	+	+	+	+				
9	"	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10	"	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
11	"	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
12	"	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
13	"	+	+	+							
14	"	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
15	"	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
16	Gangr. postgr.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
17	" "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
18	Gr. Mening.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
19	Tuberkulöser	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
20	"	+	+	+	+	+	+	+	+		
21	"	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
22	"	+	+	+	+	+	+	+			
23	"	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
24	"	+	+	+							

Von den 24 Stämmen erwiesen sich 13 als serologisch identisch, 3 Stämme agglutinierten überhaupt nicht und 8 agglutinierten bei verschiedenen, im Vergleich zum Titer schwächeren Konzentrationen des Serums.

Das mannigfaltigste Bild lieferten diejenigen Rassen des *B. influenzae*, die bei den Patienten mit Lungentuberkulose isoliert worden waren. Unter ihnen konnten nicht 2 Stämme gefunden werden, die in serologischer Hinsicht untereinander identisch gewesen wären.

Die Stämme, die von Patienten mit komplizierter Grippe gezüchtet wurden, können in 2 gleiche Gruppen eingeteilt werden: die 1., die untereinander identischen Stämme Nr. 1, 2 und 6, und die 2. Gruppe aus 3 serologisch verschiedenen Stämmen.

Die Rassen des *B. influenzae*, die aus dem Sputum von Patienten mit kompliziertem Verlauf der Grippe gezüchtet wurden, waren in 77 Proz. identisch. Von 9 Stämmen agglutinierte 1 überhaupt nicht und 1 agglutinierte in einer Verdünnung von 1:400.

Auf diese Weise zeigten die Stämme des *B. influenzae* von Patienten mit schwerem, kompliziertem Verlauf der Grippe die geringste Variabilität, während die größte diejenigen Rassen gaben, die aus dem Sputum von Kranken isoliert worden waren, bei denen dieser Mikroorganismus keine spezifische Erkrankung hervorgerufen hatte.

Die aus dem Sputum tuberkulöser Patienten gezüchteten Stämme des *B. influenzae* unterschieden sich auch in biochemischer Hinsicht in etwas von den Stämmen der an Grippe Erkrankten. Erstere gaben eine positive Indolreaktion in 60 Proz., letztere in 75 Proz. Erstere reduzierten Nitrate

bis zu den Nitriten in 81 Proz., letztere in 100 Proz. In bezug auf die Kohlenhydrate war die Aktivität dieser beiden Gruppen eine gleiche. In 90 Proz. zersetzten sie schwach Traubenzucker, in 75 Proz. Inulin. Laktose und Mannit wurde von keinem der Stämme zersetzt.

Immunitätsreaktion bei an Grippe Erkrankten.

Die Frage nach der Bildung spezifischer Immunkörper galt in bezug auf den *B. influenzae* lange Zeit für fast aussichtslos. Selbst Pfeiffer sprach sich über die Anwesenheit der Agglutinine noch in negativem Sinne aus. Derselben Ansicht waren Fichtner, Ghedini, Scheller, Uhlenhuth, Seligman und Wolff u. a. Nur seit Aenderung der Technik und seit Anwendung besonderer Methoden haben sich die Ansichten in dieser Richtung geändert. Gegenwärtig verfügen wir über ein ziemlich bedeutendes wissenschaftliches Material, in welchem dieser Reaktion eine bestimmte diagnostische Bedeutung zuerkannt wird (Bieling und Weichbrodt, Wollstein, Levinthal, Loewenthal, Fürst).

Die Agglutinationsreaktion, unter gewöhnlichen Verhältnissen ausgeführt, d. h. auf 2 Std. bei einer Temperatur von 37°, sodann auf 24 Std. bei Zimmertemperatur, ergab keine Resultate. Von uns wurden auf diese Weise 8 Versuche angestellt, und nicht ein einziges Mal gelang es uns, ein positives Resultat zu erzielen, trotzdem bei 5 Patienten das Blut in der 2. und 3. Woche seit Beginn der Erkrankung entnommen worden war.

Die erneut vorgenommenen Versuche mit dem Blute dieser Kranken wurden im Laufe von 6 Std. bei einer Temperatur von 37° durchgeführt. Nach Verlauf von 6 Std. hatte sich in einigen Reagenzgläsern ein Niederschlag gebildet. Dieser Niederschlag hatte jedoch nicht das charakteristische Aussehen von ziemlich großen Flocken, wie wir sie gewöhnlich bei einer positiven Agglutinationsreaktion beobachten. Er war feinflockig und gab bei geringstem Schütteln dieselbe homogene Suspension der Mikroben wie auch im Kontrollreagenzglas. Bei der mikroskopischen Untersuchung im hängenden Tropfen konnten nur hin und wieder mehr oder weniger große Gruppen zusammengeballter Mikroben beobachtet werden, während der Niederschlag im allgemeinen aus äußerst kleinen Konglomeraten bestand, so daß einige Gesichtsfelder Zweifel erregten, ob es sich hierbei nicht um zufällige Gruppierungen einzelner Mikroben handle. Auffallend war jedoch der Umstand, daß die Bildung des Niederschlages bei negativen Kontrollversuchen nur in einem Teil der Fälle beobachtet werden konnte und auch hier wieder nur bis zu einem bestimmten Titer. Wir führten daher bei diesen Kranken die Agglutinationsreaktion nochmals aus. Die Reagenzgläser wurden nach der Methode von Lubinski im Laufe von 5 Std. einer Durchwärmung bei 60° ausgesetzt. 4 Std. später, bei Ablesen der Resultate, bot sich uns ein äußerst demonstratives Bild dar, in Form eines grobflockigen Niederschlages, der Boden und Wände der Reagenzgläser bedeckte. Unter dem Mikroskop erwies sich derselbe als typische große Gruppen von untereinander fest verklebten Mikroben.

Bei unserer weiteren Arbeit bedienten wir uns der letztgenannten Methode. Hierbei muß bemerkt werden, daß das Ablesen der Resultate sofort nach 5—6stünd. Durchwärmung vorzunehmen ist, da nach 24stünd. Stehen oft eine spontane Ausflockung der suspendierten Mikroben sogar in den Kontrollgläsern eintritt. Die Erscheinungen einer Pseudoagglutination treten besonders stark unter den Stämmen hervor, die von tuberkulösen Kranken gezüchtet wurden.

Schon bei den ersten Versuchen stießen wir auf die zuerst von Bieling angegebene Tatsache der Mono- und Polyvalenz der Stämme des *B. influenzae*. Bei Ausführung der Agglutinationsreaktion verwendeten wir 4 Bakterienemulsionen aus 4 verschiedenen Stämmen und bemerkten folgendes: 1 Stamm reagierte nur mit einigen der Seren, während die übrigen 3 mit allen positiv reagierenden Seren eine Reaktion gaben. Infolgedessen wurden von uns 6 polyvalente Stämme gewählt, welche sodann bei allen Untersuchungen des Blutes auf die Anwesenheit von Agglutininen angewandt wurden. Einer dieser 6 Stämme war aus dem Gehirn eines an zerebrospinaler Meningitis gestorbenen Patienten gezüchtet worden, zwei aus dem Sputum von Kranken mit Lungengangrän nach Grippe, zwei aus dem Sputum von Patienten mit grippöser Pneumonie und einer aus dem Sputum eines an unkomplizierter Grippe Erkrankten.

Interessant ist es hierbei, daß die Stämme, die von Patienten mit schwerem, meistens kompliziertem Krankheitsverlauf isoliert worden waren, häufiger eine Polyvalenz zeigten als die von leichten Kranken isolierten. Zur Agglutinationsreaktion wurde gewöhnlich eine Emulsion lebender Mikroben aus 3—4 Stämmen benutzt. Insgesamt wurden 22 Kranke untersucht; die Agglutinationsreaktion wurde bei ihnen 32mal ausgeführt. In der Tabelle III sind Diagnose, Krankheitstag, an welchem die Blutuntersuchung ausgeführt wurde, Serumverdünnung und Resultat der Untersuchung verzeichnet.

Kürzshalber sind nur 8 der untersuchten Fälle angeführt: 3 mit der Diagnose Grippe, 3 mit grippöser Pneumonie und 2 Fälle mit Lungengangrän nach Grippe. Bei den übrigen 13 Patienten wurde die Agglutinationsreaktion entweder 1mal oder 2mal ausgeführt.

Tabelle III.

	Diagnose	Krank- heitstage	1/10	1/40	1/60	1/80	1/100	1/120	1/150	1/200	1/250	1/300	1/350	1/400	1/420	Kon- trolle
Pat-in K.	Gr.	12	+	+	+	+	+	+								—
"		20	+	+	+	+	+	+	+							—
"		39	+	+	+	+	+									—
Pat. M.	Gr.	19	+	+	+	+	+									—
"		25	+	+	+	+	+	+								—
Pat. P.	Gr.	16	+	+	+	+	+	+	+							—
"		24	+	+	+	+	+	+	+	+						—
Pat. G.	Gr. Pn.	32	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		—
"		42	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
"		52	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
Pat. K.	Gr. Pn.	18	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+			—
"		26	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+			—
"		31	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			—
Pat. I.	Gr. Pn.	12	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			—
"		20	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			—
"		27	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			—
Pat. T.	Gangr.	4 Mon.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
Pat. S.	"	1½ Mon.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
"		2 Mon.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
Gesund I			—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
" II			—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
" III			+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
" IV			+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Wie aus der Tabelle zu ersehen ist, wurde eine positive Agglutinationsreaktion sowohl bei unkomplizierter Grippe als auch bei Patienten mit kom-

pliziertem Krankheitsverlauf beobachtet, wobei das Serum der letzteren den *B. influenzae* in höherer Verdünnung agglutinierte. Der höchste Titer war 1:420, der niedrigste 1:60.

Bei der Versuchsanordnung wurde als Kontrolle stets die Agglutinationsreaktion mit Serum Gesunder ausgeführt. Von 11 untersuchten Fällen agglutinierte das Serum Gesunder den *B. influenzae* nur 1mal in einer Verdünnung von 1:40, 2mal 1:20 und in 1 Falle 1:10.

Auf solche Weise geben uns unsere Untersuchungen die Möglichkeit, uns der Ansicht Levinthals anzuschließen, welcher annimmt, daß zur Anerkennung einer positiven Agglutinationsreaktion in den Fällen von Grippe der Titer des Serums nicht niedriger als 1:50 sein darf.

Von den 22 untersuchten Patienten gaben 2 ein negatives Resultat. Folglich war die Agglutinationsreaktion in 90 Proz. der Fälle positiv. Das Serum von 2 Patienten mit der klinischen Diagnose Grippe agglutinierte den *B. influenzae* in einer Verdünnung von 1:80 und 1:90 bei negativem Befund der bakteriologischen Untersuchung des Sputums.

Die Bildung der Agglutinine begann in der 2. Krankheitswoche, nahm in der 4.—5.—6. Woche zu und hielt sich dann auf einer gewissen Höhe manchmal bis zu 4 Monaten, wie dies aus der Tabelle III zu ersehen ist (Patient T. mit Lungengangrän nach Grippe).

Die Gesetzmäßigkeit in der Anhäufung und im Abklingen der agglutinierenden Eigenschaften des Serums der an Grippe Erkrankten, der hohe Prozentsatz der positiven Resultate zwingt uns, der Ansicht vieler Autoren (Levinthal, Fürst, Bieling und Weichbrodt u. a.) beizupflichten und diese Untersuchungsmethode als ein äußerst wichtiges diagnostisches Verfahren in bezug auf die grippösen Erkrankungen anzuerkennen.

Außerdem wurden die agglutinierenden Eigenschaften des Serums an Kranken mit Lungentuberkulose untersucht, da unter letzteren ein bedeutender Prozentsatz von Bazillenträgern beobachtet wird (nach unserem Material in 38 Proz.)

Wir wählten eine Gruppe von 10 Personen mit dem *B. influenzae* im Sputum und führten bei ihnen die Agglutinationsreaktion nach der Methode von Lubinski aus. In 20 Proz. war das Resultat positiv bei einer Verdünnung von 1:80, 1:90. Die Kontrolluntersuchung des Blutes tuberkulöser Kranker, deren Sputum den *B. influenzae* nicht aufwies, ergab bei denselben auch keine spezifischen Agglutinine.

Das Vorhandensein der Agglutinine bei Tuberkulösen spricht zweifellos dafür, daß der Pfeiffersche Bazillus in einem Teil der Fälle für den Organismus des Bazillenträgers nicht indifferent bleibt, sondern in demselben die Bildung von Immunkörpern auslöst.

Außer den Agglutininen wurden von Bieling, Levinthal u. a. im Serum der an Grippe Erkrankten ebenfalls Präzipitine, bakterizide und komplementbindende Stoffe konstatiert.

Von uns wurde die Reaktion der Komplementbindung bei 11 Patienten ausgeführt. Als Antigen wurde eine Emulsion aus 3 polyvalenten Stämmen benutzt, welche nach dem Verfahren von Leguuchs bearbeitet worden war. Die Emulsion enthielt 2 Milliarden getöteter Mikroben pro 1 ccm. Die Arbeitsdosis des Antigens betrug 0,02 ccm.

In der Tabelle IV sind Diagnose, Antigendosis und Resultat der Untersuchung angegeben.

Tabelle IV.

Nr.	Diagnose	Antigendosis	Resultat	Kontrolle
1	Gangr. postgr.	0,02	+++	—
2	Gr. Pn.	0,02	+++	—
3	dgl.	0,02	++	—
4	"	0,02	—	—
5	"	0,02	++	—
6	"	0,02	+++	—
7	"	0,02	+	—
8	Gr.	0,02	+	—
9	"	0,02	+	—
10	"	0,02	+	—
11	"	0,02	+	—
Gesund I		0,02	—	—
" II		0,02	—	—
" III		0,02	—	—

Eine positive Komplementbindungsreaktion wurde in 91 Proz. beobachtet. Um den Parallelismus in der Bildung der Agglutinine und der komplementbindenden Stoffe zu prüfen, wurde von uns mit dem Serum ein und derselben Kranken gleichzeitig sowohl die Komplementbindungsreaktion als auch die Agglutinationsreaktion ausgeführt. Beim Ablesen der Resultate konnte ein vollständiges Parallelgehen dieser beiden Reaktionen konstatiert werden, mit Ausnahme eines Falles, in dem die Agglutinationsreaktion bei positiver Komplementbindungsreaktion negativ war.

Bei 2 Patienten mit einer negativen bakteriologischen Untersuchung bezüglich des B. influenzae waren beide dieser Reaktionen positiv. Im Zusammenhang mit dem klinischen Krankheitsbilde bestätigte dieser Umstand die Diagnose der Grippe.

Experimente am Tier und am Menschen.

Es ist eine allgemein bekannte Tatsache, daß der B. influenzae für Tiere nur schwach pathogen ist. Cecil und Blaek sind der Ansicht, daß der Pfeiffersche Bazillus in bezug auf die Tiere nur im Laufe der ersten 5 Tage seiner Züchtung auf künstlichen Nährböden virulent bleibt. Es empfiehlt sich, gleichzeitig eine ganze Reihe verschiedenartiger Tiere zu infizieren. Als Grundlage hierfür können die Experimente verschiedener Autoren dienen: in den Versuchen von R. Pfeiffer erwiesen sich Meerschweinchen als empfindlich, in denjenigen von Urech und Schnyder Kaninchen, bei Kopp weiße Ratten. Wir führten die Infizierung mit verschiedenen Stämmen des B. influenzae an Kaninchen, Meerschweinchen, weißen Ratten und Mäusen auf verschiedene Weise aus: subkutan, intraperitoneal, intravenös, in die Lungen und durch Verstäuben der Mikrobenemulsion auf die Schleimhaut des Nasenrachenraumes und des Pharynx. Die Zahl der einverleibten Mikroben variierte entsprechend der Art des Tieres von 200 Millionen bis 5 Milliarden.

Von insgesamt 30 Tieren gingen 2 Kaninchen, 1 weiße Maus und 1 weiße Ratte zugrunde, die intravenös mit den Stämmen Nr. 18 und Nr. 16 (Tabelle III) infiziert worden waren.

Zwecks Infizierung wurde aus einer 24stünd., auf Levinthal-Agar gezüchteten Kultur eine Emulsion mit physiol. NaCl-Lösung hergestellt. Kaninchen wurden intravenös 3 Milliarden lebender Mikroben injiziert, der weißen

Ratte 400 Millionen, weißen Mäusen 200 Millionen. Die Tiere gingen im Laufe von 24 Std. zugrunde. Aus Lungen, Gehirn und Herzblut konnte eine Reinkultur des *B. influenzae* gezüchtet werden. Die serologischen und biochemischen Eigenschaften dieser Stämme waren mit denen bei an Grippe Erkrankten identisch.

Nachdem wir bei Infektion der weißen Maus mit dem Stamm Nr. 18 ein positives Resultat erzielt hatten, beschlossen wir, diesen Versuch unter denselben Bedingungen zu wiederholen. Bei der intravenösen Injektion machte die Maus eine plötzliche Bewegung, bei der die Nadel von der Spritze herabglitt. Hierbei wurde das Gesicht der Aerztin Kljufewa mit der Mikrobenemulsion bespritzt und einige Tropfen der letzteren gelangten ins Auge der Aerztin Kaschajewa.

Nach Verlauf von 12—14 Std. stellten sich bei der Aerztin Kljufewa Rötung im Halse, Schmerzen und Schüttelfrost ein. Gegen Ende des ersten Tages gesellte sich Schnupfen und leichter Husten hinzu. Im Laufe der folgenden Tage steigerten sich die Symptome, die Temperatur stieg bis zu 38°, es fand sich starker spastischer Husten und heftige Entzündung der Schleimhäute. Die hinzugezogenen Therapeuten konstatierten Grippe. Die Erkrankung hielt 7 Tage an, dann fiel die Temperatur, die Krankheitssymptome begannen abzuklingen. Bei der Aussaat aus dem Sputum wurde die Kultur des *B. influenzae* isoliert. Zwei Wochen nach Beginn der Erkrankung ergab die Blutuntersuchung eine positive Reaktion der Komplementbindung (Tabelle IV) und eine Agglutinationsreaktion in einer Verdünnung des Serums von 1:120.

Bei der Aerztin Kaschajewa wurde nach Verlauf von 24 Std. eine leichte Angina ohne Temperatursteigerung festgestellt. Zur 3. experimentellen Infektion des Menschen bedienten wir uns des frisch gezüchteten Stammes von einer an grippöser Pneumonie erkrankten Patientin. Mit Hilfe eines Wattebausches, der mit einer Reinkulturemulsion des *B. influenzae* durchtränkt worden war, wurde dem Arzte Lawrow die Schleimhaut von Mund- und Nasenhöhle bestrichen. Nach 16—18 Std. entwickelte sich das Gefühl einer allgemeinen Zerschlagenheit, Unpäßlichkeit und Schwäche. Der Arzt L. war genötigt, den Krankenempfang einzustellen und das Bett aufzusuchen. Nach einigen Stunden verloren sich diese Erscheinungen. Die Temperatur war nicht erhöht. 5 Monate vor der künstlichen Infektion hatte der Arzt L. eine schwere Grippe durchgemacht. Dr. Kaschajewa litt an Grippe während der Epidemie im Jahre 1926. In der Anamnese von Dr. Kljufewa konnte Grippe nicht festgestellt werden.

Der Stamm Nr. 18 wurde zu der Zeit, in welcher er beim Menschen Grippe hervorrief, im Laufe von 2 Wochen auf künstlichem Nährboden kultiviert. Während dieser Zeit hatte sich seine Virulenz scheinbar so weit verringert, daß er bei Einführung in den menschlichen Organismus schon nur unkomplizierte Grippe hervorzurufen imstande war, während er 2 Wochen vorher noch die Ursache einer zerebrospinalen Meningitis gebildet hatte, welche letal endigte.

Dem Organismus des Tieres einverleibt, d. h. in ungünstige Lebensverhältnisse gebracht, rief er überhaupt keine Wirkung hervor.

Vor Schluß unserer Arbeit möchten wir noch die Beweisgründe des Für und Wider in bezug auf die Theorie über das filtrierbare Virus einerseits und die Theorie von R. Pfeiffer andererseits streifen.

Ein Teil der Autoren (Happe, Wade und Manaloing, Elkeles) neigen zu der Ansicht, daß der *B. pneumosintes* das filtrierbare Stadium des *B. influenzae* darstelle. Dieser Standpunkt ist nach den überzeugenden Versuchen von Happe möglich, aus denen hervorgeht, daß in der Bouillon-

kultur solche Exemplare des *B. influenzae* vorhanden sind, die Bakterienfilter passieren.

Andere Autoren (Levinthal, Paschen) indentifizieren den *B. pneumosintes* mit den Erythrozytenkörnchen, welche zuweilen sogar kultiviert werden können (Paschen).

Wir hatten nur zweimal die Möglichkeit, Patienten im Laufe der ersten 36 Std. der Erkrankung nach der Methode Smith-Noguchi zu untersuchen. Das makro- und mikroskopische Bild entsprach vollständig dem von den genannten Autoren beschriebenen. Dasselbe Bild konnte jedoch auch in den Kontrollreagenzgläsern mit der Aussaat aus dem Blute gesunder Individuen beobachtet werden. Wir sind der Ansicht, daß es sich hierbei um nichts weniger als um die „Erythrozytengranula“ handelt, welche von Paschen beschrieben und sogar kultiviert worden sind.

Auf Levinthal-Bouillon konnten wir ebenfalls die Bildung eines Niederschlages aus Körnchen zerfallener Erythrozyten beobachten, welche bei der mikroskopischen Untersuchung vollständig kleine Mikroorganismen vortäuschten. Die Bildung des Niederschlages im sterilen Nährboden erklärte jedoch zur Genüge die Herkunft dieser „kleinsten Kokkobazillen“. Wir sind geneigt anzunehmen, daß die Ansicht von Levinthal und Paschen einer gewissen Wahrscheinlichkeit und Grundlage nicht entbehrt.

Es muß noch bemerkt werden, daß die äußerste Seltenheit der Befunde (16 Stämme im Laufe von 5 Jahren) und der niedrige Titer der Immunsereen wenig für die Theorie des filtrierbaren Virus spricht.

Von den Gegnern der Pfeifferschen Theorie werden auch ernste Einwürfe gegen den *B. influenzae* als den Erreger der epidemischen Grippe angeführt. Einen dieser Einwürfe bildet der Umstand, daß es in einigen Fällen von Grippe nicht möglich ist, den Pfeifferschen Bazillus zu züchten.

Einen großen Fortschritt bedeutet die von Levinthal ausgearbeitete Züchtungsmethode des *B. influenzae*. Nach den glänzenden Resultaten, die er nach Anwendung seines von ihm vorgeschlagenen Nährbodens erhielt, ist er der Ansicht, daß alle Arbeiten, in denen von der Unmöglichkeit einer Züchtung des *B. influenzae* gesprochen wird, als auf falscher Technik basierend abzulehnen sind. Seligman u. Wolff bemerken, daß das beständige Auffinden des *B. influenzae* bei der Grippe außer allem Zweifel steht.

Nach unserem Material wird der Pfeiffersche Bazillus im Sputum bei richtiger Methodik in 100 Proz. von unkomplizierter und in 83 Proz. von komplizierter Grippe festgestellt. Einzelne negative Resultate aber sind bei jeder bakteriologischen Untersuchung möglich. In solchen Fällen kann die Immunitätsreaktion als diagnostisches Hilfsmittel dienen.

Nach unermüdlchen Forschungen auf diesem Gebiet wird den Immunitätsreaktionen gegenwärtig in der Diagnostik der Grippe der ihnen gebührende Platz eingeräumt. Und wirklich charakterisieren sie in genügendem Grade die Reaktion des menschlichen Organismus auf das Eindringen des krankheits-erregenden Agens — des *B. influenzae Pfeifferi*.

Die Bazillenträger bleiben in einem Teil der Fälle ebenfalls nicht gleichgültig, sondern reagieren auf das Vorhandensein des *B. influenzae* mit der Bildung spezifischer Immunkörper. Mit dem Abklingen der Epidemie fällt auch die Zahl der Bazillenträger. Besonders erhellt dies aus den jahrelangen Versuchen Schellers. Levingardt untersuchte in epidemiefreier Zeit 61 gesunde Personen und konnte den *B. influenzae* nur in 2 Fällen konstatieren. Beide Personen erkrankten zwei Tage später an typischer Grippe. Messerschmidt hat an der Hand eines großen Materials aus der Zeit vom Oktober

1919 bis 1920 bewiesen, daß der *B. influenzae* in der epidemiefreien Zeit im Sputum, Nasenrachenschleim und im Eiter fehlt.

Von uns wurden gegen Ende der Epidemie 23 Personen untersucht, die nicht an Grippe gelitten hatten, wobei nicht ein einziges Mal Bazillenträger entdeckt werden konnten.

Es muß anerkannt werden, daß trotz des von vielen Autoren angegebenen hohen Prozentsatzes von Bazillenträgern während einer Epidemie dennoch die ätiologische Rolle des Pfeifferschen Bazillus nicht gelegnet werden darf.

Als wichtigster Einwurf muß der Umstand anerkannt werden, daß es nicht gelingt, beim Menschen und beim Tier eine experimentelle Grippe hervorzurufen. Ein positives Resultat bei der Infektion von Tieren konnte bis jetzt nur in den vereinzelt dastehenden demonstrativen Versuchen von Cecil und Black an Affen erzielt werden. Was die Experimente am Menschen betrifft, so muß bemerkt werden, daß, außer der zufälligen Infektion des Dr. Kretz, in den Versuchen von Fenyressy und Kopp von 5 mit Kulturen des *B. influenzae* infizierten Personen 3 an unkomplizierter Grippe erkrankten.

In unseren Versuchen rief die Reinkultur des *B. influenzae*, auf die Schleimhaut von Menschen gebracht, die früher nicht an Grippe gelitten hatten, bei ihnen das typische Bild der grippösen Erkrankung hervor.

Auf Grund unserer eigenen Befunde und der Literaturangaben glauben wir den Pfeifferschen Influenzabazillus als den wirklichen Krankheitserreger der epidemischen Grippe anerkennen zu müssen.

Literatur.

- 1) B. Fenyressy u. H. Kopp, Centralbl. f. Bakt. Abt. 1, Orig. Bd. 98. 1926. H. 7—8. —
- 2) W. Levinthal, M. Kuczynski u. E. Wohl, Aetiologie, Epidemiologie, pathologische Morphologie und Pathogenese der Grippe. 1921. — 3) M. Stutzer, Fragen d. Tuberk. (russ.). Bd. 3. Nr. 1. 1925. — 4) M. Stutzer, Wratschebnoje djelo (russisch). Nr. 18—20. 1923.
- 5) I. Kritschewsky u. G. Schotter, Epidemische Grippe (russ.). 1927. — 6) R. Pfeiffer, D. m. W. 1925. S. 10. — 7) E. Ureth et W. Schnyder, Ann. de l'Inst. Past. T. 39. 1925. N. 9. — 8) Kristensen, M., Centralbl. f. Bakt. Abt. 1. Orig. Bd. 94. 1925. S. 99. — 9) P. Durand et U. Lumbroso, Ref. im Bull. de l'Inst. Past. 1926. Nr. 19. — 10) P. Durand, Ch., Anderson et U. Lumbroso, Ibid. — 11) Milton W. Hall, Ref. i. Bull. de l'Inst. Past. 1927. Nr. 1. — 12) Mary J. Evans and James C. Small, Ref. i. Bull. de l'Inst. Past. 1926. Nr. 10. — 13) L. Boët, Ann. de l'Inst. Past. T. 39. 1925. Nr. 10. — 14) E. Nassau, Ref. i. Centralbl. f. Bakt. Abt. 1. Ref. Bd. 79. Nr. 11/12. — 15) J. Riha, ebenda. — 16) N. P. Hudson, ebenda. — 17) W. B. Sharp and E. O. Jordan, ebenda. — 18) P. Fildes, ebenda. — 19) Th. Thjøtta, ebenda. — 20) E. O. Jordan and A. F. Reith, ebenda. — 21) B. Leichtentritt u. Schober, Wien. klin. Wochenschr. 1924. S. 1029. — 22) P. Lereboullet, La Grippe. 1926. — 23) R. Leuchtenberger, M. m. W. 1924. S. 1061. — 24) H. Lubinski, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 103. 1924. S. 298. — 25) M. Isabolinsky u. W. Judenitsch, Centralbl. f. Bakt. Abt. 1. Orig. Bd. 99. 1926. H. 7/8. — 26) Iwaschenzew, Wratsch. d. 1923 (russisch).
- 27) Dobrejzer, Hyg. und Epid. 1925. Nr. 5. (russisch). — 28) A. Sadow, Epid. Grippe. 1926. (russisch). — 29) Knorr, D. m. W. 1925. S. 65. — 30) W. Kollath, Centralbl. f. Bakt. Abt. 1. Orig. 98. 1924. S. 518. — 31) A. Luger, Grippe und Encephalitis. 1926. — 32) Friedemann, D. m. W. 1927. Nr. 9. S. 354. — 33) W. H. Wynn, Ref. i. Mikr. Journ. Bd. 4. 1927. (russisch). — 34) E. Krajecowski, Ref. i. Wratsch. d. Nr. 19—20. 1925. (russisch). — 35) M. Knorr et W. Gehlen, Ref. i. Bull. de l'Inst. Past. 1926. Nr. 13—15. — 36) Gottschalk, Klin. Wochenschr. 1922. Nr. 19.

Nachdruck verboten.

Ueber die Wertbestimmung des Milzbrandserums nach Al. Lusztiq.

[Aus der Bundesanstalt für Tierseuchenbekämpfung in Mödling
(Direktor: Dr. F. Gerlach).]

Von Dr. **F. Gmeiner**, wissenschaftlicher Hilfsarbeiter.

In dieser Zeitschrift, Bd. 98. H. 7/8. S. 492, hat A. Lusztiq eine in mehrfacher Hinsicht interessante Methode für die Auswertung von Milzbrandserum angegeben, zu deren systematischer Nachprüfung ich veranlaßt wurde, um deren Beurteilung an sich sowohl, als auch im Vergleiche zu der bisher gebräuchlichen Sobernheimschen Methode der Wertbestimmung des Milzbrandserums zu ermöglichen, da ja das letztgenannte Verfahren bekanntlich nicht jene konstanten Ergebnisse zu liefern vermag, wie sie zu wünschen wären, und wie wir sie bei Wertbemessungsmethoden für andere Sera als unerlässlich voraussetzen.

Da zunächst mehrfache Ueberprüfungen der Lusztiq'schen Angaben unter Zuhilfenahme von Milzbrandstämmen des Mödliner Institutes zu wesentlich unterschiedlichen Resultaten führten, stellte Dir. Dr. A. Lusztiq in entgegenkommender Weise seinen Milzbrandstamm „Freiburg“ für diese Zwecke zur Verfügung, der in Glycerin-Kochsalzaufschwemmung als Versandimpfstoff dient, und der, wie wir bestätigen können, in seiner Virulenz dem Vakzin II Pasteurs entspricht.

Die genaue Dosierung der Keimzahl erfolgte in der von Lusztiq angegebenen Weise durch Bestimmung einer 24stünd. Agarröhrchenkultur am 5. oder 7. Tage, die mit 100 ccm einer 40proz. Glycerin-NaCl-Lösung abgeschwemmt war. Vor allem wurde die Dosis letalis optima ermittelt, in diesem Falle jene Keimzahl, die eine junge 100 g schwere, weiße Ratte am 4. Tage tötet. Zu diesem Zwecke wurden 8 weiße Ratten, welche nicht unter 97 g und nicht über 102 g schwer waren, subkutan mit steigenden Keimzahlen geimpft. Das Resultat war folgendes:

I. Ratte subkutan geimpft mit				100 000 Keimen überlebt			
II.	„	„	„	250 000	„	„	„
III.	„	„	„	800 000	„	Tod am	10. Tage
IV.	„	„	„	1 500 000	„	„	8. „
V.	„	„	„	2 000 000	„	„	6. „
VI.	„	„	„	3 000 000	„	„	4. „
VII.	„	„	„	4 000 000	„	„	3. „
VIII.	„	„	„ über	4 000 000	„	„	3. „

Die natürliche Widerstandsfähigkeit der Ratten gegen die Infektion mit Milzbrand erweist sich mithin auch in diesen Versuchen als eine ganz bedeutende. Zu den weiteren Versuchen wurden daher als Dosis letalis optima ca. 3 000 000 Keime verwendet, die in 1 ccm der eingangs erwähnten Aufschwemmung enthalten waren.

Die nun folgenden Serumauswertungen wurden, entsprechend den Angaben der Originalarbeit von Lusztiq, durchgeführt, jedoch wurden je 4 Kontrolltiere in die Versuchsreihen eingestellt, da mit einem schwankenden individuellen Verhalten dieser Tierart bei den Milzbrandversuchen gerechnet werden mußte.

Impfdosen:

1) 0,05 ccm Serum	= 1,0 ccm der Verdünnung	1:20
2) 0,08 " "	= 1,5 " "	1:20
3) 0,1 " "	= 2,0 " "	1:20
4) 0,15 " "	= 1,5 " "	1:10
5) 0,2 " "	= 2,5 " "	1:10
6) 0,3 " "	= 3,0 " "	1:10

Nach der subkutanen Serumimpfung folgt ebenfalls subkutan die Injektion der Kultur, im vorliegenden Versuche 1 ccm der Stammverdünnung 1:100 (Glyzerin-NaCl.). Von den 4 Kontrolltieren erhielten je 2 Kultur allein, die beiden anderen außerdem simultan Normalserum bzw. phys. NaCl. Wertbestimmung am 13. 2. 1928. Nach der Sobernheim-Methode ausgewertetes und hochwertig befundenes Milzbrandserum vom Pferd. Kulturen Orig. Stamm „Freiburg“. Dos. let. opt.: 3000000 Keime.

Serum-Dosis 0,05

Ratte I Gewicht 97 g

14. 2.	0
15. 2.	0
16. 2.	0
17. 2.	0
18. 2.	+ Milzbrand

Serum-Dosis 0,08

Ratte II Gewicht 101 g

14. 2.	0
15. 2.	0
16. 2.	0
17. 2.	0
18. 2.	0
19. 2.	} gesträubtes Haar, Besserung.
20. 2.	
21. 2.	0
22. 2.	0
überlebt.	

Serum-Dosis 0,1

Ratte III Gewicht 104 g.

14. 2.	0
15. 2.	0
16. 2.	0
17. 2.	0
18. 2.	0
19. 2.	0
20. 2.	0
21. 2.	0
22. 2.	0
überlebt	

Serum-Dosis 0,15

Ratte IV Gewicht 96 g.

14. 2.	0
15. 2.	0
16. 2.	0
17. 2.	0
18. 2.	0
19. 2.	krank
20. 2.	+ Milzbrand

Serum-Dosis 0,2

Ratte V. Gewicht 100 g.

14. 2.	0
15. 2.	0
16. 2.	0
17. 2.	krank?
18. 2.	Besserung
19. 2.	0
20. 2.	0
21. 2.	0
22. 2.	0
überlebt.	

Serum-Dosis 0,3

Ratte VI. Gewicht 101 g.

14. 2.	0
15. 2.	0
16. 2.	0
17. 2.	0
18. 2.	0
19. 2.	0
20. 2.	0
21. 2.	0
22. 2.	0
überlebt.	

Kontrollratten:

0,3 ccm Normalserum.

Ratte VII. Gewicht 99 g.

14. 2.	0
15. 2.	0
16. 2.	0
17. 2.	krank
18. 2.	+ Milzbrand

0,3 ccm Physiol. Kochsalzlösung.

Ratte VIII. Gewicht 100 g.

14. 2.	0
15. 2.	0
16. 2.	0
17. 2.	+ Milzbrand

Kultur allein.

Ratte IX. Gewicht 102 g.

14. 2.	0
15. 2.	0
16. 2.	0
17. 2.	0
18. 2.	0
19. 2.	gesträubtes Haar
20. 2.	lebt nach Abschluß des Versuches.

Kultur allein.

Ratte IX. Gewicht 104 g.

14. 2.	0
15. 2.	0
16. 2.	0
17. 2.	krank
18. 2.	+ Milzbrand

Der Verlauf des Versuches weicht demnach einigermaßen von dem Luszti^gs ab. Die Dosis let. opt. mußte allerdings um ein Vielfaches höher genommen werden, als die von Luszti^g für diesen Stamm angegebene. Die Kontrollen standen am 4., 4½ und 5. Tage um, 1 blieb auch weiterhin am Leben. Die mit Immunserum geimpften Ratten II, III, IV, VI blieben am Leben, Ratte I und IV verendeten an Milzbrand. Es konnte also eine Regelmäßigkeit im Ausfall des Versuches, die entsprechend der Menge des angewendeten Immunserums zu erwarten gewesen wäre, nicht festgestellt werden.

Eine weitere solche Wertbestimmung wurde mit einem vom Rind gewonnenen Milzbrandserum durchgeführt, das ebenfalls bereits nach der Sobernheim-Methode ausgewertet und hochwertig befunden worden war. Die Dosierung und der Gang der Prüfung erfolgte, ebenso wie früher, nach den Originalangaben von Luszti^g. Nur wurde diesmal der Milzbrandstamm „Freiburg“ frisch nach einer 1maligen Rattenpassage verwendet, um die Dosis letalis optima zu verringern. Tatsächlich sank die Keimzahl derselben auf 1000000, welche eine weiße Ratte von 100 g am 4. Tage tötete.

Wertbestimmung am 3. 3. 1928. Milzbrandserum vom Rind. Kultur: Stamm „Freiburg“ Rattenpassage. Dos. let. opt. 1 Million Keime.

Serum-Dosis 0,05 ccm.

Ratte I. Gewicht 102 g.

4. 3.	0
5. 3.	0
6. 3.	0
7. 3.	0
8. 3.	0
9. 3.	0
10. 3.	0
11. 3.	0
12. 3.	0
13. 3.	0

Serum-Dosis 0,1 ccm.

Ratte III. Gewicht 97 g.

4. 3.	0
5. 3.	0
6. 3.	0
7. 3.	0
8. 3.	0
9. 3.	0
10. 3.	+ Milzbrand

Serum-Dosis 0,2 ccm.

Ratte V. Gewicht 101 g.

4. 3.	0
5. 3.	0
6. 3.	0
7. 3.	0
8. 3.	0
9. 3.	0
10. 3.	0
11. 3.	0
12. 3.	0
13. 3.	0

Serum-Dosis 0,08 ccm.

Ratte II. Gewicht 98 g.

4. 3.	0
5. 3.	0
6. 3.	0
7. 3.	0
8. 3.	0
9. 3.	+ Milzbrand

Serum-Dosis 0,15 ccm.

Ratte IV. Gewicht 100 g.

4. 3.	0
5. 3.	0
6. 3.	0
7. 3.	0
8. 3.	0
9. 3.	+ Milzbrand

Serum-Dosis 0,3 ccm.

Ratte VI. Gewicht 97 g.

4. 3.	0
5. 3.	0
6. 3.	0
7. 3.	0
8. 3.	0
9. 3.	0
10. 3.	+ Milzbrand

Kontrollratten:

0,3 ccm Normalserum.		Kultur allein.	
Ratte VII.	Gewicht 102 g.	Ratte VIII.	Gewicht 96 g.
4. 3.	0	4. 3.	0
5. 3.	0	5. 3.	0
6. 3.	0	6. 3.	0
7. 3.	+ Milzbrand	7. 3.	+ Milzbrand

Auch bei diesem Versuch konnte der erwartete regelmäßige Verlauf nicht festgestellt werden, da Ratte I, die mit der kleinsten Serumdosis gespritzt war, am Leben blieb, während alle anderen Tiere die Kontrollen bloß um 2—6 Tage überlebten, schließlich aber doch an Milzbrand verendeten.

Endlich wäre noch zu bemerken, daß 2 überlebende Ratten aus den vorangeführten Versuchen nach 20 bzw. 24 Tagen verendeten. Bei beiden fand sich an der Impfstelle ein Abzeß. Die regionären Lymphdrüsen waren geschwollen. Eine Ratte zeigte in der Leber einige stecknadelkopfgroße, gelbliche Herde, die sich bei der histologischen Untersuchung als kleine nekrotische Herde und leukozytäre Infiltrate erwiesen. Milzbrandbakterien waren über die ganze Leber verstreut. Die Kulturen aus Leber und Herzblut ergaben Milzbrand in Reinkultur. Zweifellos also chronisch verlaufender Milzbrand, an welchem Ratten infolge ihrer natürlichen Resistenz eher erkranken dürften als andere Tiere, auf welchem Umstand bereits Zwick in seiner Abhandlung „Ueber Milzbrandinfektion“ anläßlich der 7. Tagung der Freien Vereinigung für Mikrobiologie in Berlin 1913 hinweist.

Schlußfolgerung.

Wenn ich zusammenfassend die von Lusztig angegebene Wertbestimmung für Milzbrandserum im Vergleich zu dem Sobernheimschen Verfahren beurteilen soll, so wäre zu sagen, daß dieser neueren Wertbestimmungsmethode keineswegs eine größere Sicherheit innewohnt, insofern als nachweislich im Tierversuch und in der Praxis höchstwertig befundene Milzbrandsera die Ratten nur ungleichmäßig und nicht etwa gesetzmäßig gegen die nachfolgende spezifische Infektion zu schützen vermögen. (Ausbleiben der schützenden Wirkung der höheren Serumdosen!). Ferner erscheint schon eine exakte, Grundlagen für die Auswertung bietende, Dosierung der Kultur unter Berücksichtigung des Rattengewichts nicht möglich, da, wie sich in meinen Versuchen zeigt, unter 4 Angehörigen dieser Tierart im Gewichte von je 100 g, 1 die ermittelte Dosis letalis optima allerdings nicht reaktionslos, aber doch verträgt.

Es erscheint mir daher nicht geboten, an Stelle der Sobernheimschen Methode der Wertbestimmung des Milzbrandserums ein anderes Verfahren, etwa das von Lusztig angegebene treten zu lassen, wenn es nicht eine erhöhte Sicherheit der Bewertung des Serums ermöglicht. Verbilligung in der Beschaffung der Versuchstiere und Vereinfachung der Applikationsweise bei einem derartigen Verfahren allein sind als unzureichende Motive zu bezeichnen, um einen Ersatz der Sobernheimschen Methode durch dasselbe zu rechtfertigen.

Nachdruck verboten.

Studien über Anophelismus ohne Malaria in der Umgebung Amsterdams¹⁾.

[Aus dem Institute für Tropenhygiene des Königl. Kolonial Instituts
in Amsterdam.]

Von Dr. **A. de Buck, E. Schoute** und Prof. Dr. **N. H. Swellengrebel**

Assistenten

Vorstand

der Abteilung für Zoologie des Instituts für Tropenhygiene.

Mit 11 Abbildungen im Text und 1 Tafel.

Einleitung.

Die Verbreitung des *Anopheles maculipennis* in den Niederlanden ist qualitativ und, bei Vergleich mit stark malariaverseuchten Gegenden Europas, auch quantitativ derartig, daß man fast überall Malaria erwarten möchte, zumal, wo bei der Kleinheit des Landes, der dichten Bevölkerung und dem intensiven Verkehr nichts der Verschleppung der Krankheit nach allen Teilen im Wege zu stehen scheint. Und dennoch nehmen wir die als eine Anomalie anmutende Erscheinung eines sich im Herzen des Landes, im Zentrum des Verkehrs, behauptenden Malariaherdes wahr, der sich nicht ausdehnt, auch nicht während der Jahre epidemischer Exazerbationen, wie sie zu Anfang des Jahrhunderts und in den kurz hinter uns liegenden Malariajahren auftraten.

Dieser Zustand ist sehr auffallend und legt, selbst unter voller Anerkennung des *A. maculipennis* als unentbehrlich für die Malariaübertragung, den Zweifel nahe, ob in Holland der Gegenwart des *A. maculipennis* an sich als Grundlage eines Bekämpfungsplanes überhaupt größere Bedeutung beizumessen ist, und ob es nicht richtiger wäre, sich nach anderen Umständen umzusehen, die letzten Endes die Häufigkeit der Malaria (sei es auch auf Umwegen) mitbedingen, die aber, weniger verbreitet als der ubiquitäre *A. maculipennis*, von praktischen Maßnahmen leichter erfaßt und beseitigt werden können.

Dieser Standpunkt, der sich den auf Anophelenvernichtung gerichteten Maßnahmen gegenüber ablehnend, jedenfalls gleichgültig verhält, würde freilich eine nicht unbedeutende Aenderung erfahren, wenn sich diese Ubiquität des Malariaüberträgers als eine scheinbare erwies, dadurch, daß sich qualitative oder quantitative Unterschiede zwischen den lokalen Anophelenfaunen zeigen, die zum jeweiligen Vorkommen oder Fehlen der Malaria in Beziehung stehen. Denn in diesem Falle ginge der „*Anopheles*-Faktor“ seiner, durch die Ubiquität bedingten Indifferenz verlustig. Es handelte sich ja dann nicht mehr um die Gegenwart des *Anopheles* im allgemeinen, sondern um die eines „aktiven“, im Gegensatz zu einem „indifferenten“, *Anopheles*; nur von der ersteren wäre sodann die von der Theorie erheischte enge Beziehung zu dem Vorkommen der Malaria zu erwarten.

Seit den klassischen Untersuchungen Stephens und Christophers²⁾, hat die Geschichte der modernen Malariaforschung in der Tat mehrfache Beispiele einer solchen Differenzierung in aktive und indifferente Anophelen zu verzeichnen

1) Diese Arbeit wurde zum Teil mit finanzieller Unterstützung des Malariakomitees des Völkerbundes ausgeführt.

2) Roy. Soc. Rep. to the Malaria Comm. 6. Ser. 1902. S. 3—10.

Gelegenheit gehabt. Sehr einfach lagen die Verhältnisse da, wo sich die Anophelenbevölkerung einer Gegend aus mehreren Arten zusammengestellt erwies, von welchen nur die eine oder andere für die Malariaübertragung in Betracht kam. Es hat sich aber bei dem Versuche einer Lösung des Problems des „Anophelismus ohne Malaria“ mittels Differenzierung der lokalen Anophelenpopulationen gezeigt, daß man sich nicht immer auf solche grobe Artunterschiede stützen kann: Ganz Europa ist da, um zu beweisen, wie sehr diese Erklärung, in den Tropen so fruchtbar, hier im Stiche läßt: Für weite Länder Europas, wie für Holland, ist *A. maculipennis* die einzige vorhandene Fiebermücke, und doch wird gerade in ihrem Verbreitungsgebiete der Anophelismus ohne Malaria am häufigsten konstatiert. Es ist klar, daß man nun, in derselben Richtung fortschreitend, zu einer feineren Analyse der Mückenbevölkerung, welche im rein systematisch-entomologischem Sinne, einer einzigen Art, d. h. dem *A. maculipennis* anzugehören schien, übergehen mußte. Mit Bezug auf *A. maculipennis* hat man diese Aufteilung schon angefangen mit der Schöpfung des *A. sacharovi* (elutus)¹⁾ und der neuerdings von Falleroni²⁾ bekannt gegebenen Varietäten des *A. maculipennis*.

Es wäre aber verfehlt, mit dem Prinzip der Differenzierung lokaler Anophelenpopulationen ausschließlich den Gedanken an verschiedene Arten oder Varietäten, im Sinne obengenannter Forscher, zu verknüpfen. Neben dieser genetischen Differenzierung sind auch alle jene Einflüsse zu berücksichtigen, welche innerhalb des Verbreitungsgebietes eines genetisch homogenen Anophelenbestandes tätig, die Häufigkeit dieser Mücken, ihre Beziehungen zum Menschen, oder andere Einzelheiten ihres biologischen und für die Malariaübertragung wichtigen Verhaltens, modifizieren können. In diesen Gedankengang passen die Anschauungen, welche den Bedingungen der Umwelt einen Einfluß zuschreiben, der zu mehr oder weniger bleibender phänotypischer Umstimmung der Anophelen, mit Bezug auf ihr Malariaübertragendes Vermögen, führt; z. B. der Salzgehalt der Brutplätze, weiter der Umfang und die Zugänglichkeit der tierischen Blutreservoirs im Vergleich zu menschlichen, welche uns aus den Theorien Grassis und anderer³⁾ und namentlich durch die „zoophile Rasse“ der Roubaudschen Theorie⁴⁾ bekannt sind; aber auch jene Anschauungen, welche den lokalen Bedingungen der Umwelt keine bleibende, sondern nur zeitweilige, modifizierende Einwirkung auf die Mückenbevölkerung zuerkennen wollen. Derartige Bedingungen beeinflussen z. B. die Häufigkeit der Anophelen (einen Faktor der besonders von Ross⁵⁾ eine eingehende Berücksichtigung erfuhr), sei es im allgemeinen oder mit Bezug auf die Häufigkeit in menschlichen Wohnungen, in Verbindung mit der ablenkenden Wirkung des Viehbestandes⁶⁾, oder mit dem Reichtum an Schlupfwinkeln, welche die Wohnungen den Mücken bieten [James]⁷⁾.

1) In gewissen Gegenden scheint *A. sacharovi* in dieser Beziehung nützlich zu sein. Vgl. Ottolenghi, Riv. di Malariologia. Vol. 6. 1927. p. 344.

2) Riv. di Malariologia. Vol. 5. 1926. p. 553.

3) Alle zitiert auf S. 360 unserer demnächst zu erwerbenden Arbeit.

4) Ann. Inst. Pasteur. T. 34. 1920. p. 181.

5) Prevention of malaria. London. 1910. p. 156—164.

6) Schöffner und seine Mitarbeiter haben, nachdem sie die Bedeutung dieser Ableitung der Mücken, speziell mit Bezug auf *A. ludlowi* klar gelegt hatten (Meded. d. Burg. Geneesk. Dienst in Ned. Indië. 1919. Nr. 3. S. 65) dieselbe zu einer praktischen Maßnahme ausgearbeitet. (Ebenda. 1922. S. 51; Verhandl. d. 4. Kongr. der „Far East. Ass. of Trop. Med.“ Vol. 2. 1921). Ähnliche Beobachtungen hat Wesenberg-Lund bei *A. maculipennis* gemacht (Mém. Acad. Roy. de Copenhague. Sect. d. Sc. 8. Ser. 8. T. 8. 1920. Nr. 1).

7) The disappearance of malaria from England. (League of Nations. C. H. Malaria. 4. 1924. p. 7.)

Wichtig sind alle diese theoretischen Betrachtungen, indem sie unser Handeln unmittelbar beeinflussen. Wer den die Differenzierung der lokalen Anophelismen herbeiführenden, Unterschieden der Häufigkeit alles Gewicht beimißt, wird auf allgemeiner Anophelenvernichtung als bedeutendster Maßnahme bestehen; wer die durch die Eigenheiten der Konstruktion menschlicher Wohnungen bedingte, ungleich große Gelegenheit für die Mücken, daselbst längere Zeit zu verweilen, als erstes ins Auge faßt, wird geneigt sein, Malaria-bekämpfung in der Gestalt von Wohnungsverbesserung zu treiben; wer von der Anophelenablenkung durch das Vieh vieles erhofft, wird sich auf die „zootrophe Prophylaxis“ legen, mag er dabei auf die Heranzüchtung einer „zoophilen Rasse“ hinarbeiten oder sich ein bescheideneres Ziel, ohne dauernde Modifikation der Anophelenbevölkerung, setzen. Und wer endlich die Anophelendifferenzierung auf die Existenz aktiver und indifferenter, genetisch verschiedener, Varietäten zurückführen zu können glaubt und demzufolge die Bedingungen der Umwelt weniger ausnützen kann (so weit die Eigenschaften der aktiven Varietäten hierzu selbst keinen Anlaß geben), der wird sich um die mögliche Anwendung einer „Speziesassanierung“ bemühen.

Es möge diese kurze, keine Vollständigkeit beanspruchende Ausführung genügen, um zu zeigen, daß es sich bei den genannten Erwägungen nicht um akademische, sondern um praktisch wichtige Fragen handelt, deren Beantwortung unsere Tätigkeit bei der Malaria-bekämpfung lenken soll, falls letztere nicht zu einem Tasten ins Blinde hinein herabsinken will.

Jedenfalls gilt dieses für das Malariaproblem in den Niederlanden, wo sich einerseits dann und wann (z. B. in 1900—1903 und 1918—1922) beträchtliche epidemische Erhebungen der gewöhnlich sich auf einer niedrigen Stufe haltenden Malaria zeigen; wo andererseits die Trockenlegung der „Zuiderzee“ eine ungewöhnliche Ausdehnung der Malaria, nach geschichtlichen Daten nicht zu den Unmöglichkeiten gehörig, erwarten läßt, und wo folglich ein eingehenderes Studium des bisher ungelösten Problems des „Anophelismus ohne Malaria“ erforderlich ist.

In unserer ersten Mitteilung¹⁾ über diesen Gegenstand haben wir, wie auch van Thiel²⁾, den Versuch gemacht, den Mangel an Uebereinstimmung zwischen der geographischen Verbreitung in Holland der Malaria einerseits und des *Anopheles maculipennis* andererseits durch örtliche Unterschiede der Mücken, angesichts ihres Vermögens Malaria zu übertragen, zu erklären. Wir hatten uns hierbei zuerst zu orientieren, ob sich überhaupt lokale Varietäten finden und, falls sie sich nachweisen ließen, ob sie als durch äußere Faktoren bedingte Modifikationen resp. als erblich fixierte Rassen aufzufassen seien. Weiter ging es darum, ob die gefundenen Rassen, resp. Modifikationen, sich in der Fähigkeit, Malaria zu übertragen, unterscheiden, mit Hinsicht auf ihre Tauglichkeit, als Wirt für die Malariaparasiten zu fungieren, oder auf andere Eigentümlichkeiten, welche die Wirtswechsel des Parasiten in irgend einer Weise beeinflussen können.

In der Umgebung Amsterdams, welche zwei Bezirke umfaßt, von welchen der eine („Bezirk I“) von Malaria in einer von Jahr zu Jahr wechselnder Intensität heimgesucht wird, während der andere („Bezirk II“) gänzlich, oder nahezu, verschont bleibt, ließen sich zwei Formen von *A. maculipennis* nachweisen, welche sich zwar nicht individuell, aber doch gruppenweise durch die mittlere Körperlänge (an der Flügellänge, welche mit der Körperlänge einen hohen Grad der Korrelation — nml. $+ 0,804 \pm 0,015$ bis $+ 0,820 \pm 0,010$ — aufwies, bemessen) und die Zahl der Maxillarzähne (die kleinste Form hat

1) *Bullet. of Entomol. Res.* Pt. 4. Vol. 17. 1927. p. 351.

2) *Arch. f. Schiffs- u. Trop.-Hyg.* Bd. 30. 1926. Beih. 1. S. 70.

die höchste Zahl). differenzieren ließen. Diese beiden Formen waren in unserem Untersuchungsgebiete in der Weise verbreitet, daß die kleine in Bezirk I und die große in Bezirk II am häufigsten war.

Die Unterschiede zwischen den beiden Typen ließen sich nicht auf ungleiche äußere Einflüsse (wie z. B. der Chlorgehalt der Brutplätze) zurückführen, denn sie blieben bei der Züchtung der Anophelen aus den zwei Bezirken, unter identischen Bedingungen für beide Typen unverändert erhalten. Wir schlossen daraus, daß es sich in jenen Bezirken um zwei Anophelen-Populationen handle, in welchen eine große, resp. eine kleine erbliche Rasse überwiege.

In ihrer Fähigkeit, den Malariaparasiten als Wirte zu dienen, konnten wir zwischen den beiden Populationen keinen Unterschied nachweisen. Die große war aber im Experiment weniger zum Saugen menschlichen Blutes geneigt als die kleine. Den bedeutendsten biologischen Unterschied fanden wir aber in dem Verhalten im Winter. Die Ueberwinterung der großen Population fängt schon im September an und ist eine vollkommene, d. h. die Ernährung mit Blut ist fast vollständig aufgehoben und die Entwicklung des Fettkörpers ist allgemein und maximal. Bei der kleinen Population dagegen findet sich „semihibernation“ [sensu Grassi]¹⁾, d. h. die Ernährung mit Blut bleibt bei nicht zu niedriger Temperatur unausgesetzt, während eines größeren Teiles des Winters, erhalten und die Entwicklung des Fettkörpers ist eine sporadische und geringe.

In Anbetracht der besonderen Bedeutung, welche der Winterinfektion des *A. maculipennis* mit Tertianaparasiten in unserem Lande zukommt²⁾, und der einleuchtenden Tatsache, daß Winterinfektion nur bei semihibernierenden Anopheles zustande kommen kann, ist es klar, daß die vollkommene Ueberwinterung die große Population zur Malariaübertragung im Winter unfähig macht.

Da die hier erwähnten Unterschiede nicht individuell, sondern nur auf statistischem Wege nachzuweisen sind, und, da das Verhalten der zwei Formen während der Ueberwinterung nur orientierend untersucht worden war, erschien es angebracht, die bisher erreichten Resultate nachzuprüfen und zu erweitern und auch nach anderen Ursachen des Anophelismus ohne Malaria zu fahnden, wobei folgende Punkte besonders ins Auge gefaßt wurden:

- 1) Relative Häufigkeit von *A. maculipennis* in Ställen und Häusern.
- 2) Absolute Häufigkeit dieser Art.
- 3) Relative Häufigkeit verschiedener Blutarten im Mückenmagen, die alle vergleichungsweise in den beiden Bezirken zu prüfen waren.

I. Verbreitung der großen und kleinen Population im Winter.

Als wir unsere Untersuchungen im Herbst 1925 in Bezirk I anfangen und keine Unterschiede in der Größe bemerkten beim Vergleich der aus Ställen oder menschlichen Wohnungen (meistens Dachstuben) stammenden Anophelen, haben wir weiter auf diese Art der Herkunft nicht mehr geachtet. Um in jeder Station soviel Mücken als nur möglich aufzutreiben, fingen wir sie dort, wo sie im Winter am schnellsten und leichtesten zu haben waren. Nach und nach stellte es sich heraus, daß diese bevorzugten Fundstellen in den beiden Bezirken nicht dieselben waren: In Bezirk I sind es vor allem die Ställe, in Bezirk II dagegen kalte, unbewohnte Räume, wie Scheunen, Heuspeicher, Dachböden oberhalb der Ställe oder auch Nachts bewohnte Dachstuben menschlicher Wohnungen, alles Räume, welche wir im folgenden unter den gemeinschaftlichen Namen „Verstecke“ zusammenfassen werden. Diesen Unterschied nicht eher beobachtet zu haben, wäre für unsere Untersuchung bedeutungsvoll gewesen,

1) Ann. d'Igiena. Vol. 32. 1923. p. 438.

2) Korteweg u. Swellengrebel, Nederl. Tydschr. v. Geneesk. 1921. 2. Hälfte. p. 275—276. — Honig, Inaug. Dissert. Amsterdam. 1921. — Swellengrebel, Nederl. Tydschr. v. Geneesk. 1924. 2. Hälfte. S. 750—763; Bull. Soc. Pathol. Exot. T. 15. 1922. p. 116.

wenn die Regel, daß die Mücken in diesen beiden Kategorien von Fundstellen sich morphologisch nicht unterscheiden lassen (welche für Bezirk I tatsächlich gilt), auch auf Bezirk II anwendbar wäre. Aber das ist im Winter eben nicht der Fall. Denn während dieser Zeit beobachtet man in Bezirk II einen von uns als „Segregation“ bezeichneten Vorgang, der darin besteht, daß die Anophelesbevölkerung sich in zwei Gruppen teilt. Die kleinen Anophelen¹⁾ halten sich in den Ställen auf, saugen dann und wann Blut und zeigen wenig Fettentwicklung, während die langflügeligen sich in den „Verstecken“ sammeln, nur selten Blut saugen und (jedenfalls zu Anfang der Ueberwinterungsperiode) eine starke und allgemeine Entwicklung des Fettkörpers aufweisen.

Zwar findet man im Bezirk II rein „große“ Stationen²⁾, wo die Stallmücken die Größe und das Verhalten der Anophelen aus „Verstecken“ zeigen (wie Stat. Nr. 15, 52a, 52b, 26, 80), aber je länger wir mit der Untersuchung beschäftigt sind, um so seltener werden sie. Umgekehrt fanden wir auch im Bezirk I einige Stationen (wie Nr. 37, 49, 66), wo unsere Erfahrung aus 1925 sich nicht bestätigte, und wo sich in den Verstecken eine große Mückenbevölkerung fand.

Diese Segregation geht im Sommer vollständig zurück, ein Umstand, der unsere, von Anfang an festgestellte Regel: für die Beurteilung der Zusammenstellung der Anophelenbevölkerung nur die Wintergeneration heran zu ziehen, rechtfertigt, sei es auch in einer Weise, die wir nicht erwarteten.

Die vorliegende Untersuchung erstreckt sich über 46 Stationen, wo wir 11122 ♀ von *A. maculipennis* gemessen und bei 25065 ♀ den Prozentsatz der ♀ an Blut, Eiern oder Fett ermittelt haben. Die allgemeinen Ergebnisse finden sich in Tab. I und für jede Station in Tab. II; die vollständige Beobachtungsreihe in den Stationen 4 (Bezirk I) und 29 (Bezirk II) in Tab. III. Die graphische Darstellung zeigen Karte 1, 2 und 2a³⁾ und Kurve 1 und 2.

Die oben erwähnte Beobachtungsreihe in den Stationen 4 und 29 ist wegen ihrer Länge mehr als irgendwelche andere geeignet, die Auffassung, daß die Unterschiede zwischen dem großen und kleinen Anophylentypus nur gelegentliche und zufällige sind, zu widerlegen. Andererseits zeigt diese Reihe, wie in einer Station mit einer rein großen Population ohne Segregation im Winter, letztere auftreten kann infolge des gemischten Charakters des Anophelenbestandes. Reinheit und Gemischtheit sind folglich keine unveränderlichen Attribute der Mückenbevölkerung einer Station. — Die im Sommer auftretende Verlängerung der Anophelen (Mai bis Juli) mit der daraufhin erfolgenden Verkürzung im Herbst, die wir schon früher beobachteten, ist in dem homogenen Material der Station 4 deutlich erkennbar. Die Verkürzung im Herbst wurde diesmal nicht mehr durch eine nachherige zweite Verlängerung aufgehoben. Infolgedessen gleichen die Verhältnisse im Winter 1927 mehr jenen des Winters 1925 als 1926.

Um einen Vergleich unserer jetzigen Resultate mit den vorher erhobenen, bei welchen der Segregation keine Rechnung getragen war, zu ermöglichen, konnten wir uns nicht begnügen mit der Berechnung des Mittelwertes der in Ställen und „Verstecken“ ermittelten Ziffern. Denn in dieser Weise vorgehend, würden wir dazu kommen, eine Station mit z. B. 1000 kleinen Stallmücken und 50 großen Mücken aus „Verstecken“ mit einer anderen gleich zu setzen, wo eben die letzteren in der Mehrzahl waren. Darum haben wir für jede Station einen Mittelwert (der Flügelänge usw.) derart berechnet, daß darin auch die Häufigkeit der beiden Kategorien (Mücken aus Ställen oder aus „Ver-

1) Wir nehmen hier an, daß die kleinen Anophelen aus Bezirk II mit jenen des Bezirks I identisch sind, weil sie in den Eigenschaften, die zur Differenzierung der beiden Formen dienen, mit den kleinen weitgehende und seit 1926 zunehmende Uebereinstimmung zeigen.

2) Es gab deren im Winter 1926—27 mehr als im Herbst 1927, wo verschiedene Stationen, bisher frei von Segregation (d. h. bis dahin die Ställe mit großen, fetten Mücken besetzt), diese Erscheinung zu zeigen angingen (z. B. Stat. 29 vgl. Tab. III u. Kurve 2). Ueberdies vergrößerte sich zu gleicher Zeit der Unterschied zwischen den Mücken aus Ställen und „Verstecken“. Dieses ist der Grund, warum im Herbst 1927 die Spalte „Stationen mit rein großer Population“ offen blieb (Tab. I).

3) Um einen Einblick in die geographischen Verhältnisse unseres Untersuchungsgebietes zu ermöglichen, haben wir die Karte 2a beigelegt, welche die Höhenlage unserer Stationen zeigt.

Uebersicht der Messungen der

Herkunft	Flügelänge in Einheiten je zu 41,7 μ ¹⁾		
	Allgemeine	der fetten Anophelen	der mageren Anophelen
Winter 1926—27			
Bezirk II. Stationen mit einer homogen großen Population	131,434 \pm 0,205	133,257	128,915
Bezirk I. Stationen mit einer homogen kleinen Population	122,210 \pm 0,140	124,279	122,055
Stationen, vorwiegend in Be-			
zirk II, mit Se- gregation ²⁾	„Verstecke“: 129,164 \pm 0,278 Ställe: 123,686 \pm 0,298 zusammen: 126,542 \pm 0,215	132,981 128,628 131,644	126,087 122,328 123,962
Herbst 1927 (Sept.-Okt.)			
Bezirk I. Stationen mit einer homogen kleinen Population	119,185 \pm 0,298	122,029	118,955
Stationen, vorwiegend in Be-			
zirk II mit Se- gregation ²⁾	„Verstecke“: 129,603 \pm 0,317 Ställe: 120,755 \pm 0,313 zusammen: 124,951 \pm 0,260	131,778 125,708 130,205	125,289 119,404 121,059
Herkunft	Flügelänge in Einheiten zu je 41,7 μ	Differenz derselben	% fatter Anophelen
Station 4 Bezirk I	121,453 \pm 0,272	} 9,349 \pm 0,386	6,5 79,0
Station 29 Bezirk II	130,802 \pm 0,274		

stecken“) ausgedrückt wurde. In dieser Weise wurde die Karte 3 konstruiert mit Hilfe der in Karte 4 (S. 280) und Tab. II 4. Spalte zusammengestellten Häufigkeitsverhältnisse.

Ob eine Station dem Gebiet der kleinen oder großen Anophelen zuzuzählen ist, hängt in erster Linie von der Gegenwart oder dem Fehlen der Segregation ab. Fehlt diese, so ist sie Station rein groß (z. B. 52) oder klein (nächste Umgebung Amsterdams und das Gebiet nach Norden und Osten dieser Stadt). Bei bestehender Segregation entscheidet das zahlenmäßige Verhältnis der Mücken aus Ställen und „Verstecken“. Sind erstere in der Mehrzahl, so wird die betreffende Station zu den kleinen, im umgekehrten Falle zu den großen gerechnet, während ein sich in der Wage halten beider Kategorien eine Station als „Uebergangstation“ prägt, einen Zustand, den wir schon kannten, aber nicht deuten konnten.

Die Grenze zwischen dem Gebiete der kleinen und großen Anophelen ist folglich gar keine geographische Linie. Die dessenungeachtet zu konstatierende gute Uebereinstimmung unserer jetzigen und früheren Befunde ist nur durch die

1) In dieser und anderen Tabellen ist die Flügelänge in Teilstrichen eines Okularmikrometers angegeben, welche mit einem Leitz-Mikroskop, Okul. 1, Obj. 3 (ohne Frontlinse), 41,7 μ messen (Tubus ganz eingeschoben). Es wurde bei allen Messungen immer dasselbe Mikroskop und dieselbe Linse benutzt.

2) Inkl. Stat. 37, 49, 66 des Bez. I.

belle I.

Anophelen im Herbst und Winter.

Differenz der allgemeinen Flügelänge	% fetter Anophelen	Korrelation		
		Zwischen Flügelänge und Gegenwart eines stark ent- wickelten Fettkörp.	Regression Flügelänge- Fett; zugleich ¹⁾ : Differenz Flügel- länge fett-mager	Fett-Flügel- länge ²⁾ in Prozenten
} 9,224±0,249	58	0,308±0,029	4,342	2,19 %
	7	0,086±0,021	2,224	0,33 „
} 5,478±0,408	45	0,428±0,028	6,894	2,66 „
	21,5	0,315±0,033	6,300	1,57 „
	33,6	0,424±0,021	7,682	2,34 „
	7,5	0,127±0,046	3,075	0,53 „
} 8,848±0,425	66,5	0,425±0,036	6,489	2,79 „
	21,0	0,341±0,037	6,268	1,85 „
	42,5	0,527±0,022	9,146	3,04 „
Zahl der Maxillar- zähne	Differenz derselben	Korrelation Flügel- länge: Zahl der Maxillarzähne		
17,863±0,051	} 0,786±0,076	0,215±0,034		
17,077±0,057		0,111±0,038		

ziemlich weitgehende Reinheit der Anophelenbevölkerung des Bezirks I und, als Gegenstück, ihre Gemischtheit in Bezirk II erklärlich. Die geographische Grenze trennt nicht ein Gebiet großer Mücken von einem anderen mit kleinen, wie wir früher meinten, sondern einen Bezirk mit einer homogenen Mückenbevölkerung von einem anderen, wo dieselbe gemischt ist.

Diese Reinheit, resp. Gemischtheit äußert sich auch in der positiven Korrelation zwischen Flügelänge (Fl.) und Zahl der Maxillenzähne (M. Z.)³⁾.

Wir haben schon früher darauf hingewiesen⁴⁾, daß diese, von Martini⁵⁾ angenommene, aber von anderen verneinte, Korrelation tatsächlich nachzuweisen ist, wenn man nur mit reinem Material arbeitet. Diesmal sind unsere Ergebnisse viel eindeutiger durch die Messungen des von unseren Laboratoriumszuchten (siehe S. 271, Tab. VI) herstammenden, relativ sehr homogenen Materials. Wir fanden dabei eine Korrelation, welche jene bei den in der Natur gesammelten Anophelen erhobene⁶⁾ um vieles überstieg, zu gleicher Zeit aber mit einem deutlichen Unter-

1) d. h. Verlängerung des Flügels, wenn „mager“ durch „fett“ ersetzt wird.
2) d. h. Zunahme der Prozentzahl fetter Mücken bei Steigerung der Flügelänge um eine Maßeinheit.
3) Im folgenden werden wir diese Abkürzungen Fl. und M. Z. zur Andeutung der Flügelänge und der Zahl der Maxillarzähne immer benützen.
4) Bull. Entom. Research. Vol. 17. 1927. Note auf p. 366.
5) Arch. f. Schiffs- u. Trop.-Hyg. Bd. 26. 1922. S. 257 u. Bd. 28. 1924. S. 254.
6) Diese war (Korrelation Fl: M.Z.) + 0,15 ± 0,03 in Bezirk I und + 0,05 ± 0,03 in Bezirk II.

Zusammenfassung der Beobachtungen in jeder Station

Nummer der Station auf den Karten verzeichnet	Höhe der Station in m über M.	1. „Verstecke“				2. Ställe			
		Flügelänge (Fl.)		% der Anoph. m.		Flügelänge (Fl.)		% der Anoph. m.	
		In Teil- strichen zu 41,7 μ	% der Anoph. m. Fl. > 134	Fett	Blut	In Teil- strichen zu 41,7 μ	% der Anoph. m. Fl. > 134	Fett	Blut
4	-1	117	0	10	18	117	0	4	43
7	-1,6	121	2	0	36	122	3	1	36
9	-1	120	0	6	24	126	0	0	28
11	-0,5	—	—	—	—	122	0	0	41
12	-0,5	124	0	1	33	123	0	0	71
32	0	—	—	40	5	121	3	14	61
33	-1,5	124	1	0	4	123	1	4	32
34	+0,5	118	2	17	3	119	0	7	27
39	-5	122	6	37	15	118	2	7	53
45	-4,3	123	4	25	14	120	0	15	41
51	-0,5	122	0	0	1	121	2	3	19
54	0	120	0	10	3	121	2	9	17
55	-1,6	124	6	6	9	123	1	2	27
56	-1,3	123	2	4	4	122	0	1	16
62	-0,9	123	2	30	7	123	4	20	39
71	-0,5	—	—	—	—	123	4	19	46
73	-2,5	—	—	0	3	126	6	3	44
74	-2,5	122	0	0	41	125	3	11	0
75	-0,5	—	—	—	—	125	0	0	17
76	-0,5	—	—	—	—	125	0	3	7
77	-3,5	123	2	15	7	123	0	4	49
78	0	—	—	—	—	124	0	5	21
79	-0,5	—	—	—	—	122	3	0	39
36	-0,5	126	17	13	5	119	0	22	78
37	-1	130	38	86	0	124	5	14	18
49	-0,5	130	34	53	1	119	4	7	31
66	-4,5	130	28	48	2	121	2	18	36
25	0	127	18	72	3	124	10	17	22
25a	0	131	28	83	0	122	0	18	24
26	0	129	14	97	0	128	26	53	44
29	+3	131	34	92	0	126	18	34	44
31	+5	130	28	95	2	120	5	30	30
35	+0,5	129	31	40	1	125	17	17	26
46	-0,7	133	46	76	2	125	14	15	24
47	-0,5	129	19	54	8	122	8	52	18
50	-3	130	28	78	2	122	0	11	36
58	-5	130	26	74	0	121	4	23	25
60	0	130	30	88	0	119	2	19	36
72	-5	129	20	89	0	126	18	37	22
81	+4	131	33	22	6	120	4	2	23
82	+3	132	41	79	0	—	—	14	49
15	-1	—	—	—	—	130	30	24	1
28	+3	131	34	58	0	—	—	—	—
30	+5	130	24	63	3	130	30	44	6
38	-0,7	133	44	88	1	128	21	68	19
52a	-0,7	133	44	100	0	132	38	84	10
52b	-1	133	50	96	0	131	32	96	1
80	+0,5	131	40	75	0	130	30	53	6
83	0	—	—	92	0	—	—	—	—

belle II.
(Winter 1926—27 und Herbst 1927).

3. Zusammenfassung von 1 und 2 unter Berücksichtigung der Häufigkeit der Anophelen in den „Verstecken“ und Ställen.				4. Höchste Anzahl Anophelen in Sept.-Okt. (1927) pro Fundort in:		5. Höchste Anzahl Larven in den Brutplätzen in August (1926)	
Flügelänge (Fl.)		% der Anophelen mit		„Verstecken“	Ställen	Larven pro Schöpf	Salzgehalt in m. Gr. Cl. p. L.
In Teilstrichen zu 41,7 μ	% der Anophelen mit Fl. > 134	Fett	Blut				
118	0,4	7	24	50	2000	10	1080
122	1	2	20	—	—	—	—
126	0	4	11	50	1000	—	—
122	0	0	41	—	—	—	—
123	0	1	0,5	—	—	3	2650
121	3	3	3	150	1500	7	2870
125	1	2	16	200	2700	8	2350
120	2	16	15	250	250	5	1150
120	1	4	17	200	5000	5	3750
122	0	5	6	250	2000	—	—
124	2	1	8	1000	150	4	1775
121	2	9	25	31	300	—	—
123	2	18	22	300	800	—	—
122	0	3	38	25	2000	—	—
123	3	13	11	150	250	—	—
123	4	19	46	50	800	—	—
126	6	17	3	90	600	—	—
124	2	7	15	—	—	—	—
125	0	0	17	—	—	—	—
125	0	3	7	—	—	—	—
123	0	2	47	150	250	—	—
124	0	5	21	—	—	—	—
122	4	0	39	—	—	—	—
120	3	10	15	100	400	—	—
125	9	29	10	200	1500	—	—
124	4	3	5	500	150	1	490
125	13	24	8	200	150	1	1215
126	16	37	12	100	140	—	—
125	16	43	5	130	600	1	120
132	39	48	0	200	45	0,2	30
132	32	78	0,2	110	90	0,5	35
128	25	—	—	250	100	0,03	45
127	25	30	12	—	—	0,5	30
127	32	7	8	200	600	3	915
133	36	79	0	—	—	3	375
126	9	31	16	200	1000	5	3295
129	24	—	—	1000	150	0,1	130
130	31	67	1	250	150	1	200
131	38	61	0	600	100	—	—
126	24	—	—	180	55	—	—
132	24	59	2	100	50	—	—
130	30	24	1	—	—	—	—
131	34	58	0	—	—	0,3	20
130	27	45	0	200	200	—	—
132	31	18	1	200	35	1	40
133	44	41	0	500	30	—	—
132	36	34	1	400	300	0,3	250
130	35	—	—	100	100	—	—
—	—	—	—	100	0	—	—

Kontinuierliche Beobachtungs

Datum der Beobachtung		Flügelänge (Fl.)							
		in Einzelheiten von 41,7 μ				Prozentsatz der Langflügler mit Fl. größer als 134			
		Station 4		Station 29		Station 4		Station 29	
		„Verstecke“	Ställe	„Verstecke“	Ställe	„Verstecke“	Ställe	„Verstecke“	Ställe
1925	26. 9.	—	—	—	—	—	—	—	—
	3. 10.	—	—	—	—	—	—	—	—
	20. 10.	—	—	—	—	—	—	—	—
	10. 11.	114	118	—	—	0	0	—	—
	14. 12.	113	119	—	—	0	0	—	—
1926	19. 1.	115	—	—	—	0	—	—	—
	22.—24. 2.	—	—	—	127	—	—	—	12
	3.—10. 3.	116	—	—	128	0	—	—	25
	16.—20. 4.	—	—	—	—	—	—	—	—
	10. 5.	—	115	—	—	—	0	—	—
	2.—7. 6.	124	125	—	131	0	3	—	34
	7.—16. 7.	124	126	—	132	0	3	—	34
	7. 9.	—	117	—	125	—	0	—	17
	6. 10.	—	122	131	—	—	0	32	—
	12. 11.	118	120	131	—	1	0	25	—
	8.—20. 12.	122	122	—	131	2	2	—	42
1927	24.—31. 1.	122	123	132	133	0	0	33	34
	15. 2.	—	—	—	—	—	—	—	—
	2.—3. 3.	122	—	133	129	0	—	35	13
	14.—17. 3.	120	118	129	129	0	0	18	24
	31. 3.—1. 4.	119	119	129	132	0	0	18	38
	29. 4.—3. 5.	—	117	—	131	—	0	—	28
	12.—13. 5.	—	120	—	131	—	0	—	26
	7.—9. 6.	—	124	—	128	—	0	—	18
	17. 6.	—	127	—	136	—	6	—	64
	7.—8. 7.	—	126	—	133	—	2	—	44
	28. 7.	—	120	—	128	—	2	—	10
	29. 8.—1. 9.	—	118	—	—	—	2	—	—
	2. 9.	—	—	127	125	—	—	10	10
	8. 9.	—	—	129	128	—	—	14	26
	16.—17. 9.	—	—	—	—	—	—	—	—
	19.—20. 9.	—	—	—	—	—	—	—	—
	4. 10.	117	117	131	—	0	0	34	—
	2. 11.	—	—	—	—	—	—	—	—
	9. 11.	116	116	127	119	0	0	22	10
	21.—22. 12.	118	118	128	126	0	0	14	18
1928	4. 1.	—	—	—	—	—	—	—	—
	31. 1.	118	118	131	122	0	0	28	6
	2. 2.	—	—	—	—	—	—	—	—
	7. 3.	—	—	—	—	—	—	—	—
	22. 3.	—	118	131	123	—	0	23	2
	4. 4.	—	119	129	121	—	0	8	2

schied zugunsten der aus Bezirk I stammenden Mücken: Korrelation Fl.: M.Z. bei Anophelen gezüchtet aus Eiern von Stat. 4 (Bezirk I) = $+0,445 \pm 0,040$; idem, aus Eiern von Stat. 29 (Bezirk II) = $+0,150 \pm 0,044$. Bei unseren früheren Züchtungsversuchen wurde das nämliche Resultat erreicht (wir veröffentlichten es damals nicht): $+0,409 \pm 0,048$ (Stat. 4), $+0,066 \pm 0,049$ (Stat. 26). Bei in der Natur gefangenen Anophelen, die alle von derselben Station (4 resp. 29) herstammten, ein Material, das erstgenanntem in Homogenität nachsteht, aber doch reiner ist wie dasjenige, an dem wir 1926 unsere Befunde erhoben, war die Korrelation zwar kleiner ($+0,215 \pm 0,034$ bei Mücken aus Station 4; $+0,111 \pm 0,038$ aus Sta-

belle III.

reihe in den Stationen 4 und 29.

Daten bezügl. der Ueberwinterung											
Station 4						Station 29					
„Verstecke“			Ställe			„Verstecke“			Ställe		
% der Anoph. mit:			% der Anoph. mit:			% der Anoph. mit:			% der Anoph. mit:		
Blut	Fett	reife Eier	Blut	Fett	reife Eier	Blut	Fett	reife Eier	Blut	Fett	reife Eier
33	—	5	—	—	—	—	—	—	—	—	—
24	—	3	25	—	0	—	—	—	—	—	—
9	—	0	54	—	0	—	—	—	—	—	—
3	—	0	7	—	0	—	—	—	—	—	—
0	—	0	8	—	0	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4	—	0	44	—	0	—	—	—	14	—	0
6	—	0	11	—	0	—	—	—	10	—	0
30	—	9	—	—	—	—	—	—	—	—	—
50	0	41	60	0	53	—	—	—	—	—	—
75	0	87	88	0	61	—	—	—	77	—	68
—	—	—	73	0	76	—	—	—	61	—	90
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
33	0	0	78	0	0	0	90	0	—	—	—
42	6	0	17	15	0	1	90	0	—	—	—
12	17	0	40	0	0	—	—	—	0	88	0
0	1	0	16	17	0	0	48	0	0	70	0
1	3	0	40	0	0	—	—	—	—	—	—
25	1	0	31	0	0	2	23	0	73	0	33
28	2	0	23	0	0	0	3	0	65	0	47
14	1	0	50	0	32	4	0	3	66	0	70
54	0	38	32	0	50	—	—	—	96	0	9
—	—	—	73	0	77	—	—	—	97	0	86
—	—	—	79	0	54	—	—	—	56	0	61
—	—	—	67	0	78	—	—	—	80	0	76
—	—	—	89	0	56	—	—	—	54	0	85
60	0	63	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	58	0	25	64	7	10	82	0	38
—	—	—	—	—	—	0	63	0	71	13	57
—	—	—	—	—	—	0	85	0	44	24	17
36	0	0	38	2	0	3	90	1	50	21	29
34	—	0	53	—	0	0	98	0	47	53	21
30	3	0	43	4	0	0	92	0	15	34	0
—	—	—	—	—	—	0	88	0	—	—	—
1	13	0	11	11	0	3	27	0	9	9	0
0	0	0	1	0	0	0	12	0	0	22	0
1	1	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—
20	4	0	19	6	0	0	28	0	23	2	0
1	2	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—
13	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	83	0	5	3	3	0	64	0	3
—	—	—	57	0	55	15	0	15	41	0	39

tion 29), aber immerhin größer als bei dem aus verschiedensten Stationen der Bezirke I und II gesammelten Material.

In unseren Zuchten erhielten wir immer Anophelen, die den in der Natur gefangenen, aber stets von gleichen Stationen herstammenden, in der Fl. nachstehen. Die M.Z. dieser gezüchteten Mücken ist nun, bei Vergleich mit den letzteren, ziemlich genau der Reduktion ihrer Fl. angemessen, wie aus Tab. IV hervorgeht, wo die Fl. und M.Z. von Gruppen von Anophelen desselben Ursprungs, teilweise in der Natur gefangen und teilweise gezüchtet, zusammengestellt sind. Sowohl die Mücken aus Stat. 4, wie jene aus Stat. 29, zeigen eine Steigerung der M.Z. bei zu-



Karte 1. Verbreitung der langflügigen Anophelen (d. h. mit einer Flügellänge von mehr als 134 Teilstriche des Okularmikrometers zu $41,7 \mu$ bei Benützung des Okulars Nr. 1 und des Objektivs 3 (ohne Frontlinse) von Leitz) in Ställen und Verstecken.

Jeder Kreis bedeutet eine Station (die Nummern stimmen mit denen der Tabelle II überein). Der rechte Halbkreis stellt die Befunde in den Ställen, der linke jene in den Verstecken dar. Die schwarzen Sektoren zeigen den Prozentsatz der Langflügler an ($90^\circ = 25$ Proz.).

— . — . — Südgrenze des ganzen Malariagebietes.

— — — — — Südgrenze des Teiles, in dem die Malaria mehr oder weniger endemisch verbreitet ist.

nehmender Fl., nur fängt Station 29 auf einer niedrigeren Stufe an, weil eben die großen Mücken eine kleinere M.Z. haben wie die kleine. Wenn man daher die in den beiden Stationen gesammelten Daten zusammenwirft (Tab. IV letzte Spalte), so geht die Korrelation verloren, denn bei zunehmender Fl. findet man zwar zunächst eine Steigerung, dann aber eine Verringerung der M.Z. (s. Tab. IV, S. 263).

In diesen Befunden erblicken wir den Beweis der Existenz einer positiven Korrelation Fl: M.Z., die sich aber nur zeigt in einer annähernd homogenen Population. Je reiner die Population, desto größer die Korrelation. Hieraus läßt sich umgekehrt auf eine größere Homogenität der Anophelenbevölkerung in Bezirk I schließen.

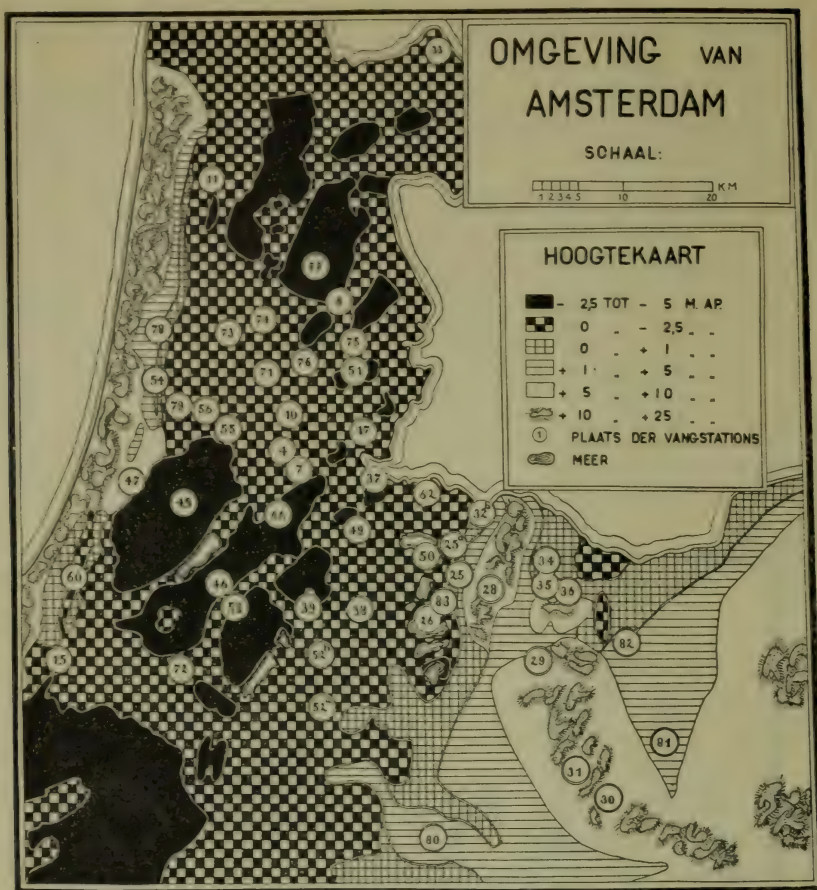
Tabelle IV.

Durchschnittliche Zahl der Maxillarzähne bei Gruppen von Anophelen (jede Gruppe im Durchschnitt aus 62 Individuen zusammengestellt), aus den Stationen 4 (Bezirk I) und 29 (Bezirk II) stammend, und zwar dergestalt, daß ein Teil dieser Gruppen daselbst als geflügelte Insekten gefangen wurde und ein anderer Teil im Laboratorium aus Eiern derselben Herkunft heranwuchs.

Mittlere Flügellänge der Gruppen	Gruppen aus Station 4			Gruppen aus Station 29			Mittlere Zahl der Maxillarzähne aller Gruppen, ohne Rücksicht auf ihre Herkunft
	Zahl der Gruppen		Mittlere Zahl der Maxillarzähne	Zahl der Gruppen		Mittlere Zahl der Maxillarzähne	
	gezüchtet	aus der freien Natur		gezüchtet	aus der freien Natur		
90—99	4	—	16,3	—	—	—	16,3
100—109	4	—	17,1	3	—	16,1	16,7
110—119	4	7	17,8	6	—	16,6	17,4
120—129	—	8	17,9	4	7	17,1	17,4
130—139	—	—	—	—	10	17,1	17,1



Karte 2. Verbreitung der Anophelen mit stark entwickeltem Fettkörper in Ställen (rechter Halbkreis in jeder Station) und Verstecken (linker Halbkreis). Für die Erklärung s. Karte 1. Die Sektoren stellen den Prozentsatz fetter Mücken dar. Hier aber ist 90° = 50 Proz. (und nicht 25 Proz. wie auf Karte 1).



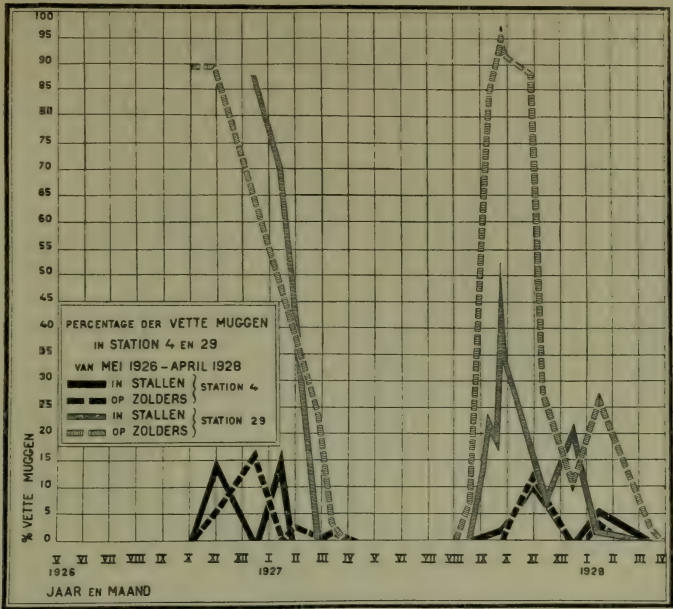
Karte 2a. Angabe der Höhenlage der Stationen (s. die Erklärung auf der Karte. „A. P.“, Amsterdamer Pegel, stimmt ungefähr mit „Meereshöhe“ überein).

Die oben erwähnte Erscheinung der anfänglichen Steigerung und nachträglichen Verringerung der M.Z. bei fortwährender Zunahme der Fl., welche sich bei absichtlicher Vermischung ¹⁾ der Rassen zeigt, ist indirekt eine wichtige Stütze für die Annahme, daß wir es bei diesen Rassen nicht mit Modifikationen zu tun haben, durch äußere Umstände bedingt, sondern mit erblichen Variationen. Denn obwohl die Annahme solcher Umstände, die Fl., M.Z. oder beide in gleichem oder entgegengesetztem Sinne modifizieren, die Situation klären könnte, ist die Annahme eines modifizierenden Faktors, der, Fl. gleichmäßig vergrößernd, M.Z. zuerst erhöht und dann verkleinert, doch äußerst gezwungen.

II. Ueberwinterung.

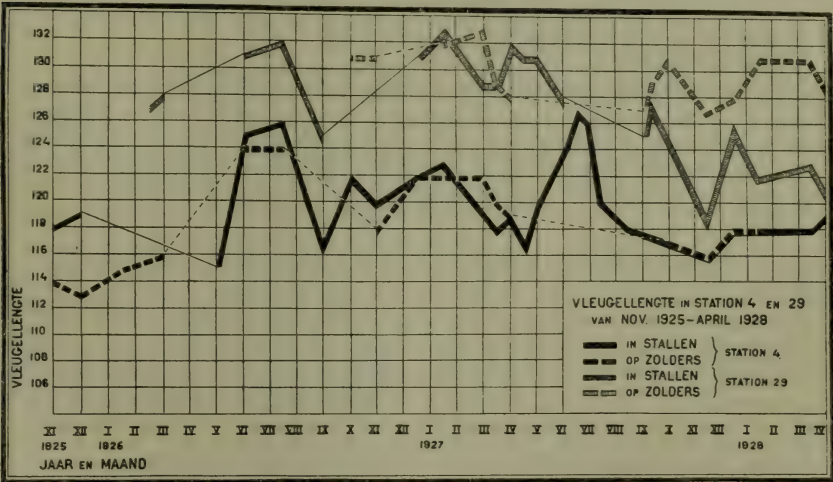
Der Gang der Ueberwinterung läßt sich in unserem Material nur in der fortlaufenden Beobachtungsreihe der Stat. 4 und 29 verfolgen, während die

¹⁾ Und auch bei unabsichtlicher wie Tab. IV unserer mehrfach erwähnten Arbeit (lok. zit. p. 357) zeigt.



Kurve 1. Prozentsatz der Anophelen mit stark entwickeltem Fettkörper („Fettzahl“) in den Stat. 4 (schwarze Kurve) und 29 (graue Kurve) von Mai 1926 bis April 1928. Die ununterbrochenen Kurven stellen die Verhältnisse in den Ställen dar, die unterbrochene jenen in den „Verstecken“.

In Stat. 29 zeigt sich die Segregation im Herbst 1927, durch den großen Unterschied der Fettzahl der Anophelen in den Ställen und Verstecken; ein Unterschied der in derselben Station, im Herbst und Winter 1926—1927 und ebenso in der Station 4 fehlt.



Kurve 2. Flügellänge in den Stationen 4 (schwarze Kurve) und 29 (graue Kurve) von November 1925 bis April 1928.

Die ununterbrochenen Kurven stellen die Verhältnisse in den Ställen dar, die unterbrochen jene in den Verstecken. Die Divergenz der grauen ununterbrochenen Kurve und unterbrochenen Kurve seit September 1927 ist eine Anzeige der in Stat. 29 zu jener Zeit sich bemerkbar machenden Segregation.

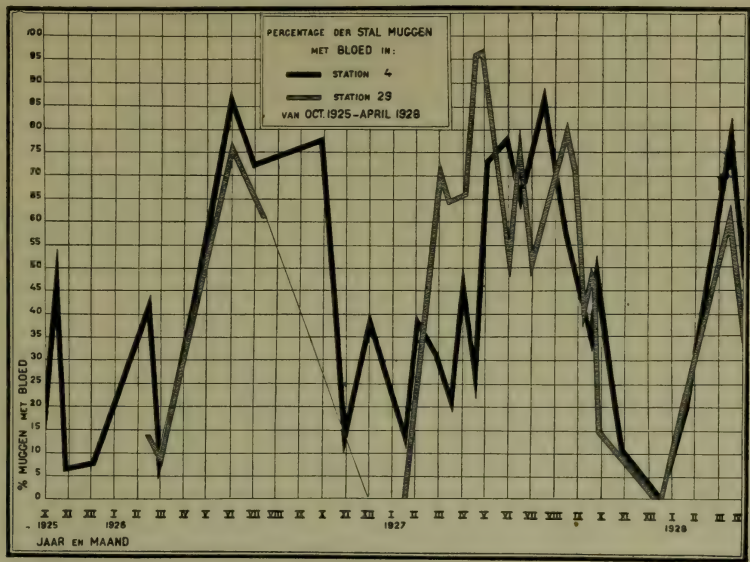


Karte 3. Verbreitung der langflügigen Anophelen. Die weißen Sektoren stellen die Mücken mit einer Flügelänge von 130—134 Teilstriche des Okularmikrometers, die schwarzen Sektoren jene mit einer Flügelänge von 135 oder mehr Teilstriche dar. 90° = 25 Proz. In dieser Karte sind die Befunde in den Ställen und Verstecken erhoben, in der auf S. 255 und 256 angegebenen Weise kombiniert. Für sonstige Erklärungen s. Karte 1.

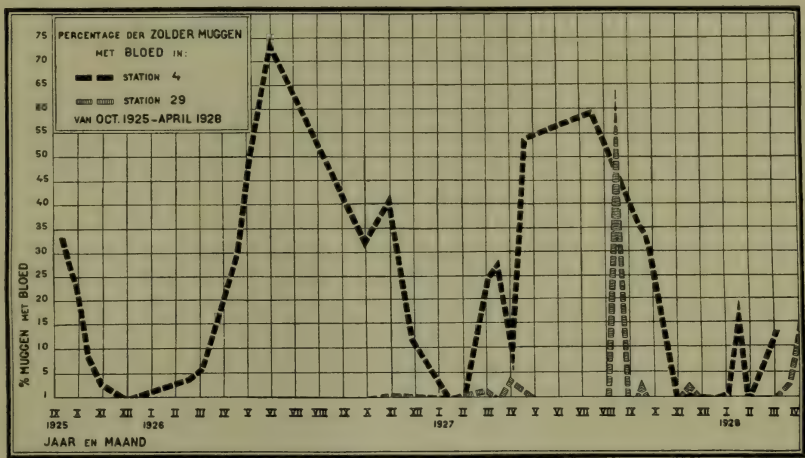
anderen Stationen als Kontrollen nützlich sein können. Die Existenz der Segregation berechtigt nicht länger zu der Behauptung, daß die Anophelen in Bezirk I im Winter Blut saugen und wenig fett werden und sich im Bezirke II entgegengesetzt verhalten. Denn die Stallmücken benehmen sich in beiden Bezirken (mit Ausnahme der Stationen ohne Segregation in Bez. II) ziemlich gleichartig (Tab. III, Kurve 1, 3 und 4). Was Blutaufnahme und Eierproduktion betrifft, ist Stat. 29 im Frühling selbst etwas eher aktiviert wie Stat. 4. Der bedeutende Unterschied findet sich im Verhalten der Mücken in den „Verstecken“: 1) In Bezirk I fahren sie fort, im Winter Blut zu saugen, sei es etwas weniger häufig als in den Ställen und mit Ausnahme der Monate Dezember oder Januar (eine Tatsache, die uns von den der Kategorie der Mücken aus „Verstecken“ angehörigen Hausmücken schon längst bekannt war²⁾). In Bezirk II

2) Siehe unsere zitierte Arbeit S. 367. Tab. 16.

dagegen findet man innerhalb dieser Kategorie von Anophelen von September bis April kaum eine Spur von Blut, auch dann nicht, wenn, wie es im Herbst 1927



Kurve 3. Prozentsatz der blutgefüllten weiblichen Anophelen („Blutzahl“) aus den Ställen der Stationen 4 (schwarze Kurve) und 29 (graue Kurve) von Oktober 1925 bis April 1928. Der Verlauf der Kurven ist fast der gleiche.



Kurve 4. Prozentsatz der blutgefüllten weiblichen Anophelen („Blutzahl“) aus den „Verstecken“ der Stationen 4 (schwarze Kurve) und 29 (graue Kurve) von November 1925 bis April 1928.

Im Gegensatz zu der Kurve 3, zeigt sich hier ein beträchtlicher Unterschied im Winterhalbjahre.

der Fall war, schon Anfangs November eine weitgehende Involution des Fettkörpers eintritt¹⁾. 2) In Bezirk I ist die Zahl der fetten Mücken in den „Ver-

1) Diese Beobachtung zeigt, daß ein stark entwickelter Fettkörper zur Erhaltung des Lebens, während einer „vollständigen“ Ueberwinterung, nicht erforderlich ist (vgl. Bragina in „Glasnik“. 1926. p. 119).

stecken“ nicht höher als in den Ställen (Ausnahmen: Stat. 37, 49, 66). In Bezirk II ist diese Zahl in den Ställen etwas (mit Ausnahme der Stationen ohne Segregation, wo die Anophelen in den Ställen sich in ähnlicher Weise wie jene der „Verstecke“ verhalten), in den „Verstecken“ bedeutend erhöht (Kurve 1), vorausgesetzt, daß man während der richtigen Periode untersucht. Denn das Fettsein der überwinternden Mücken, das sich schon Ende August oder Anfang September offenbarte¹⁾ und bei der Ueberwinterung 1926/27 erst im März (Ställe) und April („Verstecke“) ein Ende nahm, ging bei der Ueberwinterung 1927/28 schon im November in allen Stationen bedeutend zurück.

In Bezirk II besteht eine ausgesprochene positive Korrelation zwischen der „Fettzahl“ (Prozentzahl fatter Mücken) und Fl. In Gegensatz zu dem bei der Korrelation Fl: M Z. gefundenen, erweist sich hier die Korrelation Fl: Fettzahl um so größer, je gemischter das Material ist (Tab. I): in Bezirk I am kleinsten, am größten in den Stationen mit Segregation des Bezirks II, zumal wenn man die Anophelen aus Ställen und „Verstecken“ nicht getrennt hält. Am einfachsten ließ sich dieses Verhalten erklären durch die Annahme, daß die Fähigkeit zur kräftigen Entwicklung des Fettkörpers, während der dazu günstigen Periode, ein Merkmal der langflügeligen Rasse sei, welches bei der kleinen Rasse viel weniger ausgeprägt ist²⁾. Freilich wäre dann diese positive Korrelation, die gerade bei der Rassenvermischung am deutlichsten hervortritt, als eine scheinbare zu betrachten, d. h. als eine Folge des Umstandes, daß die „fette“ Rasse ebenfalls langflügelig ist, ohne daß, innerhalb dieser Rasse, wenn man sie nur rein untersuchen könnte, die Korrelation bestehe (wie das tatsächlich innerhalb der ziemlich reinen kleinen Population zutrifft).

III. Die Farbe der Mücken und ihre Eier.

A. Die Farbe.

Wir haben van Thiels³⁾ Angabe, daß die große Rasse hell-, die kleine dunkelfarbig sei, sei es auch in modifizierter Form, bestätigen können. Zwar fanden wir bei Gruppen von Anophelen aus Bezirk I und II eine ununterbrochene Farbreihe von hell bis zum dunkeln, auch dann, wenn wir unser Material so rein wie möglich (überwinternde Mücken aus den Ställen des Bez. I und den „Verstecken“ des Bez. II) wählten. In Massen zusammen gehäuft erschienen die große zwar heller, das rührte aber vom durchschimmernden Fettkörper her. Es gelang uns aber aus jeder Gruppe mit ziemlicher Sicherheit, die fast dunkelen und, etwas weniger eindeutig, die ganz hellen abzutrennen. Die Größe der ersteren ist in Bez. I fast gleich und in Bez. II nicht weit entfernt von dem mittleren Maß (Tab. V). Die Größe der Hellen zeigt diese Uebereinstimmung nur in den „Verstecken“ des Bez. II. Die fetten Mücken waren in einem auffallend hohen Prozentsatz unter den helleren Mücken vertreten (86 Proz.) in einem sehr niedrigen unter den dunkeln (1,5 Proz.), eine Uebereinstimmung, die zu groß ist, um sie einfach durch die Tatsache zu erklären, daß helle Mücken auch meistens Lang-

1) In Bezirk II; in Bezirk I ist die Zahl der fetten Mücken nicht nur viel geringer; man findet sie erst im Oktober oder November.

2) Die niedrige Fettzahl der kleinen Anophelen, z. B. von Stat. 4, ist nicht durch ihr absolutes Unvermögen, Fett zu bilden, erklärlich, denn in unseren Fütterungsversuchen (vgl. S. 275) zeigten sie eine Fettzahl, welche am 3. März jene der großen Anophelen (Stat. 29) um vieles überstieg (25 Proz. gegen 0 Proz.) und am 22. Oktober nur wenig geringer war (62 Proz. gegen 63 Proz.). Vielleicht ist dieses von den natürlichen Verhältnissen so stark abweichende Verhalten der beiden Typen auf die unnatürlichen Umstände der Gefangenschaft zurückzuführen.

3) Bull. Soc. Path. Exot. T. 20. 1927. p. 366.

Tabelle V.

Flügelänge der dunklen und hellen Anophelen im Vergleich zur mittleren Flügelänge aller Anophelen der betreffenden Station.

Herkunft	Flügelänge			Häufigkeit in % der	
	aller Anophelen der betr. Station	der dunklen Anophelen	der hellen Anophelen	dunklen Anophelen	hellen Anophelen
Bezirk I ¹⁾ aus Ställen und „Verstecken“	119,1	119,6	125,6	7,8	1,5
Bezirk II ²⁾ aus Ställen	121,8	119,3	129,1	9,3	3,6
aus „Verstecken“	129,8	123,1	132,4	5,1	8,1
Alle Fundorte		120,7	130,1		

flügler und als solche zum Fettwerden disponiert sind; eher suggeriert sie einen funktionellen oder einen erblichen Zusammenhang zwischen Fettsein und Hellheit. In Bez. II gibt es 3mal weniger Dunkle und sind die Hellen mehr als 5mal häufiger wie in Bez. I. In Stationen mit Segregation finden sich die Hellen mehr in den „Verstecken“, die Dunklen mehr in den Ställen. Eine kartographische Darstellung der Verteilung heller und dunkler Anophelen ergibt übrigens lange nicht die klare Trennung der Bezirke, welche sich auf Grund der Flügelänge oder selbst der Fettzahl erzielen läßt³⁾.

Ein gewisser Zusammenhang zwischen Gestalt, biologischem Verhalten und Farbe ist also wohl nachweisbar, ohne daß wir in dem neuen Merkmal eine bessere Hilfe zur Differenzierung der Rassen fanden. Die Mehrzahl der Anophelen gehört eben weder zur dunkeln noch zur hellen, sondern zur neutralen Mittelsorte. Nur die relative Seltenheit der hellen Mücken in Bez. I (16 Proz. der Gesamtzahl von hellen und dunklen) gegenüber der zweimal größeren Häufigkeit der dunklen Mücken in Bez. II (34 Proz. der Gesamtzahl von hellen und dunklen) bestätigt unsere Ansichten betreffs der überlegenen Homogenität der Anophelenbevölkerung des Bez. I.

B. Die Eier.

Bekanntlich hat Falleroni⁴⁾ in Italien (neben einigen selteneren) zwei häufig vorkommende Varietäten von *A. maculipennis* beschrieben: 1) Var. *Messeae* mit schwärzlichen und 2) Var. *Labbranchiae* mit grauen Eiern. Bei uns findet sich nur die erstere Abart. Sie hat allerdings nie ganz schwarze Eier, sondern immer jene mit chinesischer Schrift ähnlichen, grauen Figuren auf schwarzem Hintergrunde, die Falleroni aber auch der Var. *Messeae* beizählt. Sie scheint in Nord-Europa die einzige Abart des *A. maculipennis* zu sein⁵⁾. Man könnte die Hoffnung hegen, durch das Fehlen der in Italien so häufigen Var. *Labbranchiae* in Nord-Europa die geringere Bedeutung der Malaria daselbst zu erklären. Dieselbe wurde uns aber schon sogleich genommen durch Falleronis frühere⁶⁾ Aussage, die Varietät mit grauen Eiern (und nicht jene mit schwarzen, die sich eben in Nord-Europa findet) sei die weniger gefähr-

1) Mit Ausnahme der segregierenden Stationen 37, 49, 66.
2) Inkl. obengenannte Stationen.
3) Wir unterlassen darum die Reproduktion dieser Karte als zwecklos.
4) Loc. cit. auf S. 252 dieser Arbeit.
5) Martini, Beih. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. 24. 1920. S. 57. — Brumpt, Ann. de Parasit. T. 3. 1925. p. 399.
6) Il Policlinico. Vol 32. 1925. p. 1394.

liche. Daß er jetzt beide Varietäten als gleich bedeutend für die Malariaübertragung hinstellt, ändert daran nichts. Doch soll man der Existenz dieser beiden Abarten Rechnung tragen, denn die Var. *Messeae* ist als geflügeltes Insekt größer als die Var. *Labbranchiae*. Es ist also einleuchtend, daß der Befund kleinerer und größerer Exemplare des *A. maculipennis* (d. h. der Var. *Labbranchiae* bzw. *Messeae*) in Italien etwas ganz anderes bedeutet als der scheinbar gleiche Befund in den Niederlanden, wobei es sich um zwei Rassen innerhalb der Var. *Messeae* handelt. Wenn auch die Falleronischen Varietäten uns bei der Analyse der niederländischen Anophelenfauna nicht weiter bringen, so läßt sich die Differenzierung unserer beiden Rassen doch auch bei den Eiern durchführen und zwar mittels der Zahl der Rippen der Luftkammer. Diese ist bei der langflügeligen Rasse durchschnittlich größer als bei der Kurzflügeligen.

Bei 278 Exemplaren aus Stat. 52a (mit rein großer Anophelenbevölkerung, ohne Segregation) war die mittlere Zahl der Rippen der Luftkammer 22,22 mit einem mittleren Fehler von $\pm 0,15$. Bei 224 Exemplaren aus Stat. 4 (rein kleine Bevölkerung, ohne Segregation) waren diese Zahlen $17,79 \pm 0,13$. Die Differenz der beiden Mittelwerte war 4,43, mit einem mittleren Fehler von $\pm 0,20$ (Fig. 3 auf der Tafel).

Wir haben dieses zwar bis jetzt nur für die Population der zwei erwähnten Stationen festgestellt, aber wir können auf Grund unserer anderweitigen Erfahrungen kaum daran zweifeln, daß die eventuell noch zu begegnenden Ausnahmen lediglich auf die Unreinheit der bezüglichen Population zurückzuführen seien.

IV. Züchtungsversuche.

Wir beschränkten uns diesmal auf die Züchtung von Mücken aus Eiern verschiedener Herkunft (kleine aus Stat. 4, große aus Stat. 26, 29) unter gleichen Bedingungen in Süßwasseraquarien, meistens mit gewurzelter (*Ceratophyllum*, *Elodea*) und schwimmender (*Lemna trisulca*) Vegetation. Doch war auch jetzt wieder Beikost notwendig in der Form (neben von Baumrinden abgekratzten einzelligen Grünalgen) von Piszidin (Martini¹) und Hefe (Boyd²). Obwohl auch diese variierte Ernährung uns keine Anophelen normaler Größe lieferte, waren die Ergebnisse der verschiedenen Versuche doch viel gleichförmiger als 1926 und infolgedessen einwandfreier; denn alles kommt hier auf die Vergleichbarkeit der Resultate an.

Die abnormale Kleinheit unserer Brut bot uns, wie schon erwähnt (S. 261) die Gelegenheit, die Existenz der positiven Korrelation zwischen Fl. und M.Z. näher zu prüfen. Es stellte sich heraus, daß den abnormal niedrigen Werten der Fl. eben so kleine der M.Z. entsprachen und, daß die beiden Anophelentypen, jeder für sich, eine, von dem anderen unabhängige, kontinuierliche Korrelationsreihe zeigte (Tab. IV).

Im Einklang mit unseren früheren Befunden waren die Anophelen aus Eiern, die von Bez. II herstammten, durchschnittlich größer bei kleiner M.Z. gegenüber denen aus Bezirk I (Tab. VI³). Die Unterschiede der Fl. der ♂ und der M.Z. der ♀ sind ebenso deutlich ausgeprägt wie 1926, jene der Fl. der ♀ sind es weniger, aber können doch statistisch als mehr wie genügend betrachtet werden.

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 94. 1925. S. 452.

2) Bull. Ent. Res. Vol. 16. 1926. p. 308; letztere erwies sich übrigens als weniger geeignet.

3) Zum Vergleich geben wir auch die Ergebnisse unserer Versuche im Jahre 1926 ohne jede Auswahl, aber mit der Bearbeitung des Ziffernmateriels, was wir damals unterließen.

Die Schlußfolgerung betreffs der Existenz zweier erblich¹⁾ verschiedener Populationen können wir auch jetzt aufrecht erhalten.

Tabelle VI.

Ergebnisse der Züchtungsversuche Mai-August 1927. Zum Vergleich: Ergebnisse aller Züchtungsversuche in 1926, ohne Auswahl angeführt.

Gemessenes Organ		Station 26 und 29		Station 4		Differenz
		Anzahl	Maß	Anzahl	Maß	
1927 ²⁾	Flügel ♀ (Fl.)	514	111,836 ± 0,321	476	108,812 ± 0,431	3,024 ± 0,537
	♂	398	102,460 ± 0,406	500	93,450 ± 0,314	9,010 ± 0,514
	Maxillarzähne (M.Z.)	861	16,735 ± 0,045	798	17,725 ± 0,049	0,990 ± 0,067
	Correlation Fl.: M-Z.	486	+ 0,150 ± 0,044	403	+ 0,445 ± 0,040	—
1926	Flügel ♀ (Fl.)	464	112,108 ± 0,327	407	102,938 ± 0,349	9,170 ± 0,478
	♂	371	98,830 ± 0,492	321	89,240 ± 0,379	9,590 ± 0,619
	Maxillarzähne (M-Z.)	801	16,593 ± 0,051	588	17,265 ± 0,051	0,672 ± 0,080
	Correlation Fl.: M-Z.	404	+ 0,066 ± 0,049	298	+ 0,409 ± 0,048	—

Da unsere Zuchten während 3 Monate unter gleichbleibenden Bedingungen fortgeführt wurden, eröffnete uns dieses die Gelegenheit, den Einfluß der Temperatur auf Fl. und M.Z. aufs neue nachzuprüfen (Tab. VII³⁾). Von Mai bis Juli (inkl. August 1.—5.) sank der Wert von Fl. und M.Z. bei steigender Temperatur des Wassers in den Aquarien. Dieses stimmt mit unseren früheren Ergebnissen und auch mit Martinis Ansichten (loc. cit. S. 270). Selbstverständlich können wir unsere frühere Äußerung, daß Temperaturunterschiede nicht zur Erklärung der Existenz der verschiedenen Populationen in Bezirk I und II herangezogen werden können, nur unterstreichen.

Tabelle VII.

Flügelänge (Fl.) und Zahl der Maxillarzähne (M.Z.) bei der Züchtung während drei aufeinander folgenden Monaten mit stetig steigender Temperatur.

Monat	Mittlere Temperatur des Wassers der Aquarien	1010 Weibchen		956 Männchen
		Fl.	M.Z.	Fl.
Mai	16,6°	117,1	17,7	102,7
Juni	17,0°	111,6	17,1	95,0
Juli (inkl. August 1 bis 5)	20,3°	102,5	16,7	91,5

Zur Ergänzung unserer Züchtungsversuche haben wir auch diesmal Mücken aus Puppen in der freien Natur gefangen, gezüchtet, unter Berücksichtigung des Chlorgehaltes der Brutplätze (vgl. Tab. IX auf S. 274), um ungünstige, die Verkleinerung der gezüchteten Anophelen bedingende Umstände zu umgehen. Der Unterschied der von Bezirk I und II herstammenden Mücken ist sehr deutlich. Die Annahme eines verkleinernden Einflusses des Salzwassers, welche die Beobachtungen im Juli nahe legen könnten, wird von denen im September unzweideutig zurückgewiesen.

1) Es mag dahingestellt bleiben, ob es sich in diesem Falle um genetisch getrennte Typen oder um Dauermodifikationen im Sinne Jollos und E. Bauers handle.

2) Zum Vergleich: Die entsprechenden Daten der aus den nämlichen Stationen, in derselben Periode, gefangenen Anophelen:

Fl. ♀ : 123; Fl. ♂ 108; M.Z. 18,1 aus Stat. 4
 " : 132; " : 116; " 17,2 aus Stat. 29
 " : 9; " : 8; " 0,9 als Differenz.

3) Es werden hier die Ergebnisse aller Zuchten zusammengefaßt, aber die Resultate sind die gleichen, wenn man das Material nach der Herkunft einteilt.

V. Die Umwelt der Larven in den beiden Bezirken.

1926 fanden wir eine deutliche Uebereinstimmung zwischen der Verbreitung der kleinen Mücken und des Brackwassers. Nur die Ergebnisse unserer Zuchten hielten uns damals davon ab, dem Chlorgehalt des Wassers einen verkleinernden Einfluß auf die darin ausgebrüteten Mücken zuzuschreiben. Diese Zurückhaltung erscheint durch die nachfolgende Entdeckung der Segregation in Bez. II, wo neben großen, fast immer auch kleine Anophelen vorkommen, selbst in den reinsten Süßwassergebieten, völlig berechtigt. Es leben folglich in Bez. I meist Larven der kleinen Mücken in den Brutplätzen, in Bez. II Larven beider Rassen. Es wäre also ziemlich zwecklos, in der Zusammensetzung der Brutplätze die Bedingungen für die Existenz der beiden Anophelestypen zu suchen, selbst wenn wir von den Ergebnissen der Zuchtungsversuche ganz absehen wollen¹⁾.

Das ist auch keineswegs unsere Absicht. Wir wollen vielmehr die Ursache erforschen der vergleichsweise geringen Zahl der Larven und Imagines in den Brutplätzen, Ställen und „Verstecken“ des Bezirks II. Wir denken dabei in erster Linie an die Umwelt der Larven, welche wir in dem genannten Bezirk, im Vergleich zu Bez. I, minderwertig zu finden erwarteten, eine Erwartung, die sich übrigens nicht in unzweideutiger Weise erfüllt hat.

Daß die Brutplätze in Bez. I tatsächlich produktiver sind als jene in Bez. II, lehrten uns schon unsere Beobachtungen in 1926²⁾. Auch jetzt konnten wir wiederum das Gleiche feststellen, wie aus Tab. VIII, Spalte A, hervorgeht. Man sieht daraus ferner, daß den Brutplätzen im Bezirk I ein höherer Salzgehalt, aber eine geringere Artenzahl von Wasserpflanzen zukommt. Im Bezirk II, weniger salzhaltig, sind vor allem die höheren Phanerogamen reicher vertreten. Ganz übereinstimmende Befunde wurden schon 1920 erhoben (Tab. VIII, Spalte B, S. 273); wir haben es also nicht mit zufälligen Unterschieden zu tun.

Diese die Wasserflora betreffenden Befunde geben bisweilen ein ziemlich genaues Bild von den durch die Larven aufgenommenen Nährstoffen, wenn nämlich die Vegetation aus *Spirogyra*, *Mougeottia*, *Microspora* oder *Oscillatoria* zusammengestellt ist, obwohl man diese Fadenalgen nicht selten reichlich außerhalb, aber eine ganz andere Vegetation innerhalb des Larvenmagens findet. Bei *Cladophora* ist das sogar die Regel, und wir erhielten den Eindruck, daß diese Fadenalge, so oft das Kennzeichen unserer produktivsten Brutplätze als direkte Nahrung nicht nur nichts nützt, sondern sogar schädlich wirkt³⁾. Ebenso wenig scheinen höhere Phanerogamen und Enteromorpha⁴⁾ (inkl. *Monostroma*) selbst als Nahrung zu dienen. Es ist dies von Bedeutung, da eben höhere Phanerogamen und Enteromorphen die auffallendsten Unterschiede in der Pflanzenwelt der Brutplätze der Bezirke I und II bedingen.

1) Hiermit wollen wir keineswegs den Einfluß äußerer Bedingungen auf Fl. und M.Z. verneinen. Unsere Zuchtungsversuche 1926 und 1927 haben uns ja in unzweideutiger Weise als solche Bedingungen die Temperatur, den Salzgehalt, die Nahrung bekannt gegeben. Aber da sie uns ebenfalls lehrten, daß trotz denselben äußeren Bedingungen die Unterschiede der Fl. und M.Z. der Mücken verschiedener Abstammung nicht auszugleichen sind, wurde es uns klar, daß das Studium dieser Bedingungen die grundsätzlichen Probleme, die uns interessieren, überhaupt nicht berührt, wenn man nicht den Faktor der Erblichkeit heranzieht.

2) Loc. cit. p. 360. Tab. VIII. S. a. Tab. II, Spalte 5 der vorliegenden Arbeit.

3) Nederl. Tydschr. v. Geneesk. Dl. 67. Bd. 2. 1922. S. 350.

4) Indirekt beeinflußt diese Alge die Nahrung allerdings wohl. Die Rhodobakterien, welche wir in 18 Proz. der Larven in Bez. I und niemals in Bez. II fanden, zeigten in ihrer Häufigkeit im Larvenmagen einen deutlichen Zusammenhang mit der Gegenwart der Enteromorpha in der Umwelt.

Tabelle VIII.

Makroskopische Pflanzenwelt in einigen Brutplätzen der Bezirke I und II mit der dabei gefundenen durchschnittlichen Zahl der Larven (geschöpft mit einer untiefen Pflanne von 18 cm Durchmesser und ausgedrückt als die mittlere Zahl der Larven gefangen bei einmaligem Schöpfen).

Verzeichnis der makroskopischen Vegetation	A. Beobachtungen in Juli-Aug. 1927				B. Beobachtungen im Aug. 1920			
	Station 4, 12, 17 (Bez. I) Durchschnittlich 612 mg Chlor p. lt.		Station 26, 29 (Bez. II) Süßwasser		Station 12, 17 (Bez. I) 2000 bis 3000 mg Chlor p. lt.		Station 30, 31 (Bez. II) 42—53 mg Chlor p. lt.	
	Anzahl der		Anzahl der		Anzahl der		Anzahl der	
	Larven	Pflanzen- arten	Larven	Pflanzen- arten	Larven	Pflanzen- arten	Larven	Pflanzen- arten
Batrachium	1,8	1	0,6	1	—	—	0	1
Breitblättrige Po- tamogetonarten	—	—	0,6	4	—	—	2,0	4
Schmalblättrige Potamogetonarten	1,0	1	—	—	0	1	—	—
Ceratophyllum und Myriophyllum	0,9	2	0,5	2	11,2	2	—	—
Lemna trisulca	2,2	1	0,6	1	—	—	2,6	1
Elodea	—	—	0,4	1	—	—	2,8	1
Andere Lemnae, Wolffia, Azolla	1,6	3	0,04	3	0	4	0,8	4
Andere Samen- pflanzen als hori- zontale Vegetat.	—	—	0,2	3	0	1	1,3	5
Fadenalgen	3,0	3	0,2	5	18,3	2	1,4	2
Enteromorpha und Monostroma	1,4	2	—	—	2,7	2	—	—
Samenpflanzen u. Gefäß-Kryptoga- men als vertikale Vegetation	—	—	1,4	5	—	—	1,4	12
Durchschnittlich	1,2	1,8	0,4	2,8	5,1	2,0	1,7	3,7

Es ist also eine Untersuchung der von den Larven tatsächlich aufgenommenen Nährstoffe, wie wir sie schon 1920¹⁾ und neuerdings auch van Thiel²⁾ vorgenommen haben, zur Orientierung erforderlich. Unsere jetzigen Untersuchungen bestätigen das Obenerwähnte, soweit es den Sommer anbelangt (Tab. IX). Bei den Larven in den Brutplätzen des Bez. II, besteht der Mageninhalt zu einem viel höheren Prozentsatz aus grünen Algen und Flagellaten und zu einem viel geringeren aus anderen pflanzlichen und tierischen Ueberresten und Detritus. In September kommt aber dieser Unterschied mit den Larven des Bez. I lange nicht so deutlich zur Geltung (Tab. IX, s. S. 274 u. 275).

Die hier erwähnten Unterschiede zwischen Brutplätzen und Inhalt des Larvenmagens der Bezirke I und II sind zwar durch die Uebereinstimmung der an verschiedenen Stellen und in verschiedenen Jahren erhobenen Befunde mit befriedigender Sicherheit festgestellt, sie sind aber ungeeignet, um die oben von uns postulierte Minderwertigkeit der Brutplätze in Bez. II, bzw. der Larvennahrung in diesem Bezirke zu begründen. Der einzige Unterschied, der uns hier einen gewissen Anhalt liefert, ist der Salzgehalt, dem wir innerhalb gewisser Grenzen jetzt schon seit 1920 immer wieder als kaum zu verkennendes, begün-

1) Nederl. Tydschr. v. Geneesk. Dl. 67. Bd. 2. 1922. S. 350.

2) Loc. cit. auf S. 268.

Häufigkeit im Larvendarm von Angehörigen der unten erwähnten Nahrungsgruppen, einer bestimmten Gruppe führten, ausgedrückt als Prozentsatz der Gesamtzahl der auf alle

Gruppen der Nahrungsorganismen resp. Inhaltskörper	Juli—August 1927			September	
	Station 4		Station 26	Station 4	
	Stelle A	Stelle B		Stelle A	Stelle B
	41 Larven 128 Befunde	44 Larven 122 Befunde	146 Larven 409 Befunde	32 Larven 114 Befunde	30 Larven 82 Befunde
Grüne Algen Fadenalgen ¹⁾ und Ein-Flagellaten zelligen usw. ²⁾	2) 38 36)	4) 30 26)	16) 71 55)	3) 58 55)	13) 60 47)
Diatomeen und Peridineen	19	21	18	10	7
Pflanzliche ³⁾ und Tierische ⁴⁾ Reste	39) 43 14)	35) 48 13)	7) 11 4)	31) 33 2)	22) 32 10)
Detritus ⁵⁾ und „Sand“					
Flügelänge der aus Puppen der bezüglichen Brutplätze ⁶⁾ aufgewachsenen Anophelen	♀ 118 ♂ 105	111 97	128 120	119 101	— —
mg Chlor pro Liter dieser Brutplätze	222	472—497	Süßwasser	440	—

stigendes Moment für die Entwicklung der Larven begegnen, sowohl bei Beobachtungen in der Natur als im Experiment⁷⁾; speziell das Experiment ergab nichts, was zur Annahme einer indirekten Wirkung durch Vermittlung des Nahrungsplanktons gezwungen hätte.

Uebrigens glauben wir die Unterschiede des Darminhaltes der Larven in Bez. I und II als eine Funktion des Anpassungsvermögens der Larven an verschiedenartige Nahrungsbestandteile auffassen zu müssen, eine Fähigkeit, welche sich bei den Larven in Bez. I am besten entwickelte. Bei dieser Auffassung wäre der Unterschied in der Produktivität der Brutplätze nicht durch Verschiedenheit der Umwelt, sondern durch eine ungleiche Reaktion der Larven

1) Spirogyra, Cladophora, Oedogonium, Mikrospora, Mougeottia, Vaucheria, Zygnema.

2) Tetrasporales und Protokokkales (wie: Ankistrodesmus, Scenedesmus, Trochiscia) Coleochaete, Desmidiaceen, Volvoceen, Eugleninen, Cyanophyceen.

3) Reste höherer Pflanzengewebe, Sporen von Fadenpilzen, Pollenkörner, Rhodobakterien.

4) Copepoden, Rotatorien, Reste von Insekten und Acarinen, Schuppen, Haare, Arcella, Protozoen-Zysten.

5) Braune strukturlose Faden und sclerenchymähnliche Gebilde, wie Sand aussehende Körnchen, gänzlich unbestimmbare, offenbar als Endprodukt der Verdauung aufzufassende bräunliche oder grüne Masse.

6) Dies war ein in der Mitte der Sanddünen unweit der Meeresküste und weit (ca. 3½ km) vom Flachlande entfernter, hoch gelegener Brutplatz, den wir, ohne die Größe der Mücken damals bestimmt zu haben, nach Analogie der Stationen 47, 60, dem Bezirke II zurechnen.

7) Wir erinnern daran, daß wir bei unseren Zuchtversuchen in 1926 (loc. cit. S. 362 Tab. IX) eine deutliche, wenn auch geringe, vergrößende Wirkung auf Fl. und M.Z. eines mäßigen Salzgehaltes (1500—3000 mg Cl. p. L.) feststellten, welche sich am eindeutigsten erwies bei den aus Eiern des Bez. I gezüchteten Mücken. Es ist möglich, daß die zwar unbedeutend, aber regelmäßig vergrößerte Fl. die wir im Bez. I nördlich von Amsterdam beobachten, eine Folge des daselbst durchschnittlich erhöhten Salzgehaltes darstellt. — Weiter können wir auf unsere älteren Beobachtungen der Steigerung des Larvenreichtums bei sich erhöhendem Salzgehalt hinweisen (loc. cit. auf Seite 273 dieser Arbeit).

belle IX.

Diese Häufigkeit ist der Zahl der Befunde gleich, welche jedesmal zum Nachweis der Angehörigen Gruppen Bezug behenden Befunde.

1927		Juli—Aug. 1920	Juli 1920	Zusammenfassung	
Station 12, 17	Station 26	Station 12, 17	(6)	Bezirk I	Bezirk II
79 Larven 189 Befunde	106 Larven 298 Befunde	175 Larven 1059 Befunde	50 Larven 162 Befunde	401. Larven 1694 Befunde	302 Larven 869 Befunde
19 } 65 46 }	6 } 66 60 }	9 } 44 35 }	17 } 72 55 }	9 } 48 39 }	12 } 69 57 }
12	19	19	17	15	18
12 } 22 10 }	8 } 15 7 }	24 } 37 13 }	5 } 10 5 }	25 } 36 11 }	6 } 11 5 }
119 103	131 121	— —	— —	— —	— —
710—983	Süßwasser	2000—3000	45—50	—	—

auf eine sich hauptsächlich gleich bleibende Umwelt erklärlich¹⁾. Es wird dann der essentielle Unterschied auf eine Eigenschaft der Larven zurückgeführt: Pleiotrophie der kleinen, Oligotrophie der großen Rasse; mit der Einschränkung aber, daß die kleine in ihrer Produktivität durch die Bedingungen in den Brutplätzen des Bezirks II (Süßwasser) gehemmt wird, während den Larven der großen Rasse die ihnen eigene geringere Anpassungsfähigkeit einen Einbruch in Bez. I noch erschwert.

VI. Die Ernährung der erwachsenen Weibchen.

1. Ernährungsversuche mit Menschenblut der Weibchen aus Bezirk I und II.

Diese Versuche, vorgenommen in den in unserer früheren Arbeit erwähnten Käfigen, haben wir seitdem fast noch ein Jahr weiter geführt mit kleinen Ano-

1) Wir werden in dieser Auffassung durch Coggeshalls (Americ. Journ. of Hyg. Vol. 6. 1926, p. 556) Befunde bestärkt, der die Larvenernährung des A. quadrimaculatus (in Nord-Amerika als wählerisch, was seine Brutplätze betrifft, bekannt), verglichen mit jener des A. punctipennis (der umgekehrt mit allem vorlieb nimmt). Aus seinen Ergebnissen läßt sich ableiten, daß grüne Algen usw. bei A. quadrimaculatus am häufigsten gefunden werden (47 Proz. gegen 30 Proz.), pflanzliche und tierische Reste, Detritus, Sand usw. dagegen bei A. punctipennis (65 Proz. gegen 34 Proz.).

Wilson (Malay. med. Journ. Vol. 2. 1927. p. 56) hat auf das Vorkommen von „completely disorganised and dead“ Substanz im Larvenmagen malayischer Anophelen hingewiesen. Er hält diesen Befund für eine Anzeige ungenügender Ernährung, und zwar mit faulender Substanz. Diese soll nicht nur das Leben der Larven gefährden, sondern die aus ihnen sich entwickelnden Mücken wären auch zur Malariaübertragung weniger geeignet. Es wird hierbei offenbar vergessen, daß das Ueberwiegen von „Detritus“ im Larvenmagen noch nichts über den Zustand der aufgenommenen Nahrung aussagt. Es ist ja nicht ausgeschlossen, daß dieselbe Nahrung bei gewissen Abarten schnell zu einer nicht mehr zu erkennenden Masse verdaut wird, während bei anderen die Desorganisation langsamer verläuft.

phelen aus Stat. 4 und großen aus Stat. 29. Bei den letzteren blieb der geringere Appetit für Menschenblut ununterbrochen erhalten (Tab. X, Spalte B, Kurve 5), der Unterschied war allerdings geringer als 1926.

Tabelle X.

Prozentsatz der Anophelen aus den Stationen 4 und 26, 29 die, in Käfigen eingeschlossen, Menschenblut sogen. zugleich mit ihrer durchschnittlichen täglichen Mortalität (ausgedrückt als Proz. der toten Mücken von der totalen täglichen Zahl der Mücken). Die Beobachtungen wurden während 296 Tagen angestellt, mit einer durchschnittlichen täglichen Zahl von 80 ♀ aus Stat. 4 und 47 ♀ aus Stat. 26, 29, welche in Käfigen von 45 × 30 × 50 cm gehalten wurden, in die täglich dieselbe Person den Arm hineinsteckte.

Jahr und Monat	A. Mortalität in %		B. Blutsaugende Mücken in %								
			Station 4					Station 26, 29			
	Stat. 4	Stat. 26, 29	Temperatur während des Saugens	Saugzeit in Minuten	Anzahl	% gesogen	Zahl der Eiablage	Saugzeit in Minuten	Anzahl	% gesogen	Zahl der Eiablage
1926											
Juni	7,7	35,6			217	19,4			158	1,9	
Juli	—	22,6			—	—			890	10,1	
August	2,6	20,7			1492	25,1			155	21,9	
September	2,9	12,4			1670	25,2			295	8,5	
Oktober	1,3	—			170	37,0			—	—	
November	0,2	0,8	13°	11	1340	7,9	0	17	893	0,6	0
Dezember	1,2	0,8	16°	10	1275	8,1	0	14	740	0,8	0
1927											
Januar	0,4	1,2	13,5°	11	1135	4,8	0	11	751	1,1	0
Februar	0,5	3,2	16°	11	1310	6,8	0	13	595	4,9	0
März ¹⁾	0,3	1,7	12°	13	3861	9,9	0	13	1816	3,9	2
April	0,3	2,9	11,5°	15,5	1171	12,0	2	15,5	371	7,8	10
Mai ²⁾	0,6	6,4	14°	13	2182	13,8	9	13	1505	6,2	25
Juni	1,6	6,3	15°	13	2160	17,0	21	13	919	11,6	20
Juli	8,9	20,9	18°	12	2155	15,1	79	12	1870	5,8	49
September	1,1	6,6	16,5°	13	2557	11,7	2	13	1981	6,3	
		0,3*	15°*					12*	838*	0,5*	11
Oktober ³⁾	0,3	1,1	13,5°					12	956*	6,7	
		2,1*	13°*	12	1295	7,3	0	12*	956*	0,4*	0

Bemerkung: NB. „fett, Blut, Eier“ heißt der Prozentsatz der am Ende eines Experiments geopferten Mücken mit Blut, Eier, oder einem stark entwickelten Fettkörper.

1) am 3. März: Mücken von Station 29 { fett: 0 %
Blut: 28 %
Eier: 38 %

„ „ „ Mücken von Station 4 { fett: 25 %
Blut: 35 %
Eier: 12 %

2) am 30. Mai: Mücken von Station 29 { fett: 0 %
Blut: 76 %
Eier: 41 %

„ „ „ Mücken von Station 4 { fett: 0 %
Blut: 59 %
Eier: 73 %

3) am 22. Oktober: Mücken von Station 29: { aus Ställen { fett: 54 %
Blut: 24 %
Eier: 0 %

{ aus „Verstecken“ { fett: 63 %
Blut: 0 %
Eier: 0 %

„ „ „ Mücken von Station 4 { fett: 62 %
Blut: 20 %
Eier: 5 %

* Experimente mit fetten Anophelen aus „Verstecken“.

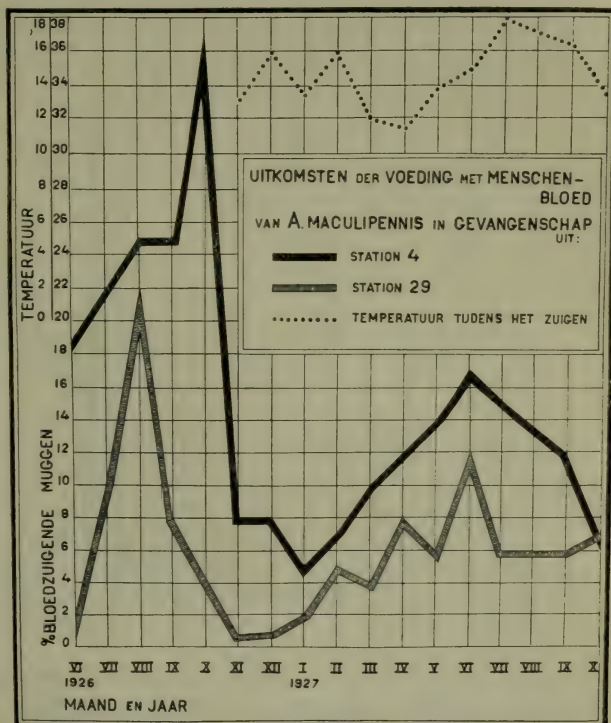
Die Periode November bis Januar ist auffallend wegen des fast vollkommenen Fastens der großen Anophelen. Die Periode maximaler Freßlust (während welcher der Unterschied des Appetits kleiner und großer Mücken, im Gegensatze zu den Befunden 1926, erhalten blieb) fiel diesmal mit jener maximalen Blutaufnahme in der Natur zusammen (Juni).

Im Anfang der zweiten Ueberwinterung (September 1927) fanden wir in Station 29 einen bedeutenden Unterschied zwischen den fetten Anophelen der „Verstecke“ und den nicht fetten Stallmücken. Erstere fasteten fast vollständig¹⁾, letztere blieben nur wenig hinter den freßlustigen Mücken aus Bezirk I zurück.

Auch diesmal war die Sterblichkeit der großen Mücken höher als jene der kleinen, für beide Rassen im Sommer am höchsten (Tab. X, Spalte A, Kurve 6),

zumal im Juli während der größten Wärme und der fleißigsten Eierablage²⁾. In dieser Periode ist der Unterschied der Mortalität der beiden Rassen auch am größten. 1926 war dieser Unterschied größer als 1927, was auf die verringerte Sommersterblichkeit der

Mücken aus Stat. 29 zurückzuführen ist. Unsere frühere Behauptung, die erhöhte Sterblichkeit der großen Mücken sei lediglich eine Folge ihrer schlechteren Ernährung, können wir nicht aufrecht erhalten. Es zeigt sich ja zu wenig Uebereinstimmung zwischen dem Verhältnis der Freßlust der beiden Rassen einerseits und ihrer Sterblichkeit andererseits. Letztere ist bei den großen Anophelen viel höher als ihre geringere Freßlust erwarten ließ: vgl. z. B. die Mücken aus Stat. 4 im Mai mit jenen der Stat. 29 im Juni. Letztere zeigen $\frac{8}{10}$ des Blutdurstes, aber das zehnfache der Sterblichkeit der ersteren.

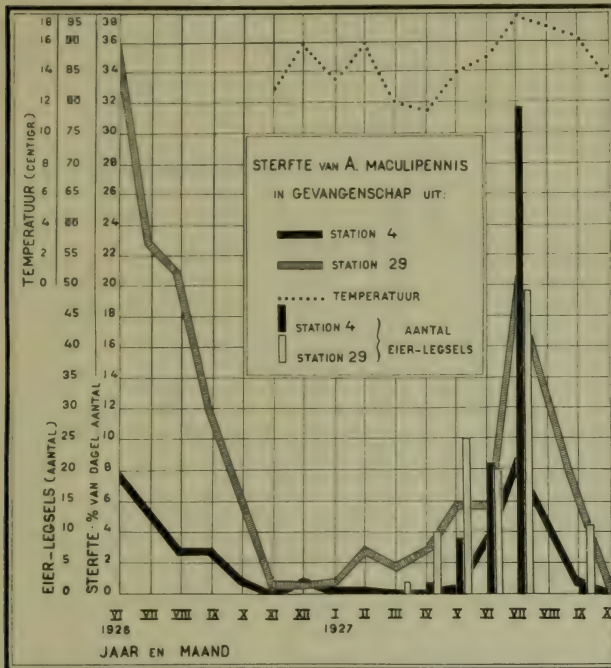


Kurve 5. Ergebnisse der Ernährungsversuche mit menschlichem Blute der in Gefangenschaft gehaltenen Anophelen aus Stat. 4 und 29. Schwarze Kurve: mittlerer täglicher Prozentsatz der Mücken aus Stat. 4, die Blut sogen; graue Kurve: Idem aus Stat. 29. Punktierter Kurve: Mittlere Temperatur während des Blutsaugens.

1) Im Experiment, und zwar nicht in den Käfigen von $45 \times 30 \times 50$ cm, sondern in kleinen Glasgefäßen von 11×17 cm, in welchen, wie unsere Erfahrung uns schon früher zeigte, die Freßlust bedeutend erhöht erscheint, ist der Appetit für Menschenblut dieser fetten, großen Anophelen dem von *Culex pipiens* noch immer weit überlegen. Es sogen unter diesen Umständen im November von 26 der ersten 16 innerhalb 10 Min., von 93 *Culices* nur 9. Die „vollkommene“ Ueberwinterung der großen Anophelen ist also keine so tief gewurzelte, unveränderliche Eigenschaft wie bei *C. pipiens*.

2) James, Nicol und Shute (Medicina de los Países Cálidos T. 1. 1928. p. 161) heben eine ähnlich hohe Sommermortalität von (englischen) *A. maculipennis* in Gefangenschaft

Eine so hohe Sommermortalität der großen Mücken würde ihre Fähigkeit zur Malariaübertragung in dieser Jahreszeit erheblich beeinträchtigen. Es ist aber fraglich, ob sie auch in der Natur vorkommt und ob sie nicht, wie auch der geringere Appetit vielmehr die Aeußerung einer schlechteren Anpassungsfähigkeit an die durch die Gefangenschaft bedingten Verhältnisse ist, wie z. B. die Verhinderung des regelmäßigen Ausfliegens¹⁾. Die Möglichkeit, daß dieses die einzige Erklärung für das Verhalten der großen Mücken in unseren Käfigen wäre, und daß „Misanthropie“ hier überhaupt keine Rolle spielt, ist nicht auszuschließen. Aber auch diese Schlußfolgerung wäre von Wichtigkeit, wenn man James²⁾ Ansichten teilt, daß ein *A. maculipennis*, der für die Malariaübertragung praktische Bedeutung gewinnen will, sich einer Lebensweise befleißigen muß, welche mit jener der Mücken, in unseren Käfigen übereinstimmt.



Kurve 6. Mittlere tägliche Sterblichkeit der in Kurve 5 erwähnten, mit menschlichem Blute ernährten, gefangenen Mücken aus Stat. 4 (schwarze Kurve) und 29 (graue Kurve). Punktierter Kurve: wie bei Kurve 5. Vertikale schwarze Balken: Zahl der Eierablagen der Mücken aus Stat. 4. Vertikale weiße Balken: Idem aus Stat. 29.

nur einen orientierenden Charakter, und wir wollen die Ergebnisse ohne Kommentar bekannt geben (Tab. XI), zumal sie ziemlich stark von den gewöhnlichen Ansichten abweichen und wir unsere Schlußfolgerungen vielleicht

hervor, welche wegen des Konstantbleibens der Temperatur (Brutschrank) nur auf die sexuelle Aktivität zurückgeführt wird, und die als wichtige Konsequenz das fast vollständige Versagen der Versuche, in dieser Periode die Malariainfektion der Mücken bis zum Sporozystenstadium zu bringen, nach sich zieht.

1) Angeblich kann *A. maculipennis* diese Verhinderung gar nicht vertragen. In unseren Experimenten hielten die Angehörigen der kleinen Rasse es dabei Monate lang ganz gut aus.

2) Brit. med. Journ. 27. 8. 1927.

3) Missiroli u. Hackett. Riv. d. Malariol. Vol. 6. 1927. Nr. 2; Leon. Commun. Labor. de parasit. Facult. de méd. de Jassy. 1923.

4) King u. Bull, Americ. Journ. of Hyg. Vol. 3. 1923. p. 353. 397.

2. Natürliche Nahrung der Weibchen aus Malariainfizierten und Malariafreien Gebieten.

Man hat an anderen Orten mit *Anophelismus* ohne Malaria die Erfahrung gemacht, daß die *Anophelen* daselbst nicht oder nur sehr selten Menschenblut saugen, auch wenn sie die Häuser regelmäßig besuchen³⁾; denn mittels der Präzipitinreaktion⁴⁾ läßt sich nur Tierblut im Mückensmagen nachweisen.

Unsere daraufhin gerichteten Untersuchungen tragen bis jetzt

nachträglich gründlich revidieren müßten. Es sei nur bemerkt, daß diese Untersuchungen auch die Malariainfizierten und -freien Gebiete der Provinzen Friesland und Groningen umfassen; die Malariainfizierten sind auch hier durch eine kleine, die Malariafreien durch eine gemischte Anophelesbevölkerung ausgezeichnet.

Tabelle XI.
Bestimmung der Herkunft des Blutes im Magen der Anophelen mittels der Präzipitinreaktion.

Tier, welches von der Reaktion als Lieferant des Blutes nach- gewiesen	Herkunft der untersuchten A. maculipennis							
	aus Malariagegend				aus malariefreier Gegend			
	in Ställen		in Häusern		in Ställen		in Häusern	
	Anzahl	%	Anzahl	%	Anzahl	%	Anzahl	%
Pferd	31	29	5	10	25	11	—	—
Kuh	29	28	17	35	67	30	—	—
Schwein	36	34	2	4	98	44	5	24
Schaf	4	4	1	2	6	3	—	—
Mensch	2	2	7	14	1	0,4	10	48
Reaktion negativ	3	3	16	33	27	12	6	30
Total	105		48		224		21	

3. Verbreitung des tierischen Blutreservoirs, das den Anophelen zur Verfügung steht.

Aus den im vorigen Paragraphen erwähnten Tatsachen halten wir den Schluß erlaubt, daß Schweineblut auf alle Fälle für die Anophelen das allverbreitetste Nahrungsmittel ist. Wenn wir dabei den Umstand in Betracht ziehen, daß die Schweine auch im Sommer die Ställe bewohnen und also mehr als andere Tiere für die „Stallablenkung“ geeignet sind, so war hierdurch eine vergleichende Untersuchung über die Verbreitung der Schweine in unseren beiden Bezirken zur Genüge begründet. Das Ergebnis dieser Untersuchung ist auf Karte 5 dargestellt. Ein Vergleich mit Karte 1 oder 3 zeigt eine gewisse Uebereinstimmung zwischen dem Verlauf der Linie, welche die Bezirke I und II trennt, und der Nordgrenze des auf unserer Karte im Süden gelegenen, an Schweinen reichen Gebietes. Es gibt aber ein zweites solches Gebiet im Nord-Osten unseres Bezirks I, von einer allgemein befriedigenden Uebereinstimmung kann daher nicht die Rede sein. Sie ist aber im Süden nicht so schlecht, daß wir gezwungen wären, den Faktor des Reichtums an Schweinen einfach zu vernachlässigen. Wir werden auf diesen Gegenstand noch zurück kommen.

VII. Die Häufigkeit der Anophelen in den beiden Bezirken.

1) Vergleichende Häufigkeit in Wohnungen und Ställen.

Es ist nicht selten von Gebieten die Rede, in denen man Anophelismus ohne Malaria darauf zurückführt, daß die Mücke angeblich nur die Ställe besucht und menschliche Wohnungen meidet¹⁾. Für Bezirk II würde das nicht zutreffen. Während der Existenz der Wintergeneration gibt es dort nicht nur im Verhältnis zur Zahl der Stallmücken, sondern auch absolut mehr Anophelen in den Häusern als im Bez. I. Im Sommer trifft erstgenanntes auch zu, aber die

1) Z. B. bei Zotta, Bull. Soc. Path. Exot. T. 20. 1927. p. 801.



Karte 4. Maximale Häufigkeit der Anophelen in den verschiedenen Stationen im September bis Oktober 1927. Zwei Kreise stellen durch die Länge ihres Radius (s. die Tabelle unten links auf der Karte) die Häufigkeit in jeder Station dar. Schwarzer Kreis: Häufigkeit in den Ställen. Weißer Kreis: Häufigkeit in den Verstecken. Der kleinere Kreis (sei er weiß oder schwarz) ist auf dem größeren gelegen. Nur dann, wenn beide Kreise gleich groß sind und einander bedecken würden, sind sie durch 2 Halbkreise ersetzt.

Die Befunde in den durch die beiden gestrichelten Kreise angezeigten Stationen wurden im Juli erhoben.

absolute Zahl der Hausmücken ist dann geringer als im Bez. I¹⁾ (Tab. XII, S. 281).

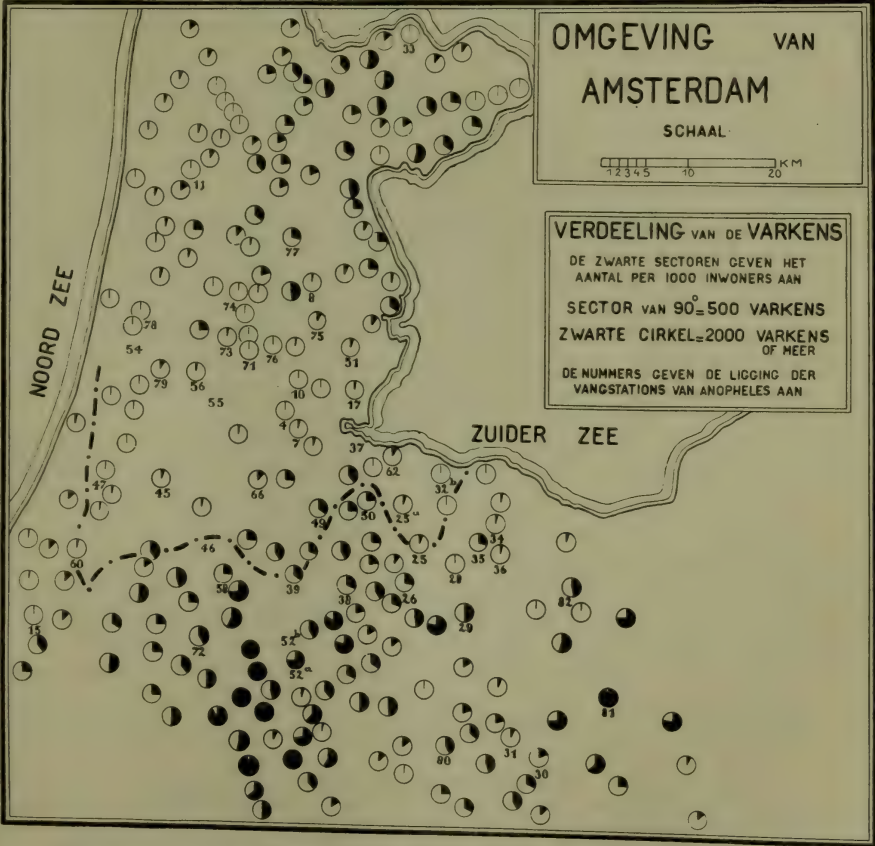
Daß dieser Umstand im Bez. II des Winters die Gelegenheit zur Infektion nicht erhöht, was man doch erwarten könnte, rührt davon her, daß die Anophelen hier in den Häusern das nämliche finden, was ihnen die Kategorie der „Verstecke“ im ganzen bietet, nämlich: Gelegenheit zur vollkommenen Ueberwinte-

1) Die zahlenmäßige Bestimmung der Häufigkeit der Anophelen wurde immer von einem von uns oder in ganz derselben Weise von dem Amsterdamer Sanitätsdienst durch genaue Zählung oder bei großer Anhäufung durch Schätzung ermittelt.

Tabelle XII.
Häufigkeit der Anophelen in Häusern und Ställen der beiden Bezirke.

Periode der Beobachtung	Bezirk I Station 4, 7, 12						Bezirk II, Station 25, 26, 29, 46, 58, 59, 72, 83—85						Verteilungs- quotient Haus : Stall in:	
	Häuser			Ställe			Häuser			Ställe			Bez. I	Bez. II
	Anzahl	Zahl der Anophelen pro Haus	% der Anophelen mit Blut	Anzahl	Zahl der Anophelen pro Stall	% der Anophelen mit Blut	Anzahl	Zahl der Anophelen pro Haus	% der Anophelen mit Blut	Anzahl	Zahl der Anophelen pro Stall	% der Anophelen mit Blut		
März—April	26	12	23	398	1426	25	81	14	2	48	64	65	1:109	1:5
Juni—Juli	62	5	32	127	1066	78	132	1	59	70	129	87	1:213	1:129
Sept.—Okt.	29	18	32	216	2804	50	42	48	2	49	162	19	1:156	1:3

rung. Bei der Segregation findet man dort in den Häusern große und fette Mücken, während wir die semihibernierende Kleine daselbst nicht haben nachweisen können, obwohl sie sich in demselben Bezirke doch in den Ställen auf-



Karte 5. Umfang des Schweinebestandes in den Gemeinden Nord-Hollands und den angrenzenden Teilen Süd-Hollands und Utrechts.
Die schwarzen Sektoren (90° = 500 Schweine) geben die Anzahl der Schweine pro 1000 Einwohner an. Die Nummern zeigen die Lage unserer Untersuchungsstationen.

halten¹⁾. In dem größten Teil von Bez. I, wo keine Segregation besteht, findet man im Winter die kleine semihibernierende Mücke auch in den Häusern, Die Bedeutung der Häuser besuchenden Anophelen ist für beide Bezirke also eine ganz andere; ihre Häufigkeit kann darum nur in Bez. I, nicht aber in Bez. II zur Bestimmung der Gefahr für Winterinfektion benutzt werden.

Für die Sommergeneration gilt dieses nicht, aber dabei ist der Hausbesuch der Anophelen in Bez. II absolut so viel geringer wie in Bez. I, daß vermutlich schon dadurch allein eine Verringerung der Infektionsgefahr herbeigeführt wird.

Fest steht jedenfalls, daß die Seltenheit der Malaria nicht auf der Abneigung der dortigen Anophelen gegen menschliche Wohnungen, beruhen kann. Die Möglichkeit aber, daß der große Anophelentypus, obwohl er in die Häuser kommt und im Sommer auch Blut saugt, dort keinen dauernden Aufenthalt nimmt²⁾, läßt sich auf Grund des oben erwähnten nicht verkennen; sie wird selbst mit Hinsicht auf die bei unseren Ernährungsversuchen (S. 278) gewonnenen Erfahrungen wahrscheinlich.

2) Die allgemeine Häufigkeit.

Bis jetzt hatten wir dem Unterschiede der Häufigkeit der Anophelen in den Bezirken I und II nur wenig Aufmerksamkeit gewidmet, weil sie in letzterem der Häufigkeit vieler anderen malariaversuchten Gebiete in Europa gleich kommt, ja sogar bedeutend übertrifft. Heute fragen wir uns aber, ob der Vergleich der Niederlande mit solchen in ethnographischer und manch anderer vom Anophelesfaktor unabhängigen Beziehung stark abweichenden Gegenden uns berechtigte, das Auge zu schließen für Häufigkeitsunterschiede, wie sie in der Karte 4 und der Tabelle II, 4. Spalte (Seite 258)³⁾ zum Ausdruck kommen. Zum Teil sind sie so auffällig, daß ein Unvoreingenommener eher hier als mit Hilfe spezieller, morphologischer und biologischer Einzelheiten die Lösung des Rätsels: Anophelismus ohne Malaria suchen würde. Ein Vergleich der Stationen 52a und 52b, 25a, 46, 58 und 72 im malariefreien Gebiete mit den Stationen 62, 66, 77 im Bezirke I bringt dann allerdings eine gewisse Enttäuschung. Trotzdem soll man dem Häufigkeitsfaktor genügend Rechnung tragen und ebensowenig vergessen, daß sein Einfluß in Bez. II dadurch verstärkt wird, daß von der immerhin nicht zahlreichen Anophelesbevölkerung noch ein Teil für die Malariaübertragung im Winter verloren geht.

Die Ursache der geringeren Häufigkeit im Bezirke II können wir nicht mit Sicherheit bestimmen. Die Oberfläche der gesamten Brutplätze in beiden Bezirken ist zu wenig verschieden, um als Erklärung dienen zu können. Vielmehr denken wir bei Bezirk II an: 1) Eine Beschränkung der Zahl der dem großen Typus angehörigen Larven infolge ihrer Oligotrophie und der dem kleinen Typus Angehörigen durch die ihnen weniger zusagende, chemische Zusammensetzung der dortigen Brutplätze (vgl. S. 273—275). 2) Eine geringere Fruchtbarkeit der großen Rasse, eine Annahme, die aber von unseren Beobachtungen, wonach die Eiablage früher anfängt und länger anhält (sowohl in der Natur wie im Experiment), nicht gestützt wird. 3) Die Möglichkeit, daß die geringere Häufigkeit, (die schließlich nichts anderes bedeutet wie eine kleinere Anzahl Anophelen

1) Die Möglichkeit wäre also zu berücksichtigen, daß die kleinen Mücken sich in Bez. I anders verhalten wie in Bez. II, d. h. daß erstere die Häuser besuchen, letztere nicht. Bei dem (auch in Bez. I) geringen Verteilungsquotient über Häuser und Ställe und der geringen Häufigkeit der kleinen Mücke in Bez. II, läßt sich diese Annahme vorläufig nicht beweisen.

2) Und folglich sich in ihrem Verhalten dem *A. hyrcanus* var. *pseudopictus*, nach der Beschreibung Missirolis und Hacketts (loc. cit. auf Seite 278 dieser Arbeit) nähert.

3) Als Ergebnis des in September und Oktober (Periode maximaler Häufigkeit) in unsern beiden Bezirken gesammelten Materials.

pro Fundort), nicht auf eine schwächere totale Anophelenbevölkerung in Bez. II zurückzuführen sei, sondern darauf, daß eine in beiden Bezirken gleich starke Mückenbevölkerung in Bez. I über eine geringere Zahl von Fundorten verteilt ist. Ein Vergleich der aus Karte 4 und 5 zu entnehmenden Daten weist tatsächlich auf ein umgekehrtes Verhältnis zwischen der Häufigkeit der Anophelen einerseits und dem Umfang des Schweinebestandes andererseits. Die Ausnahmen (Stat. 52a und 52b, 39, 25, 47, 80) sind aber zahlreich genug, um eine ausschließliche Anwendung dieser Erklärung zu verbieten; übrigens würde hierfür schon der vorhandene Unterschied in der Häufigkeit der Larven in beiden Bezirken, in dieser Erklärung nicht berücksichtigt, genügen.

Schlußfolgerung und Zusammenfassung.

Den aus unserer ersten Untersuchung gezogenen Schluß betreffs der Existenz zweier Rassen in unserem Arbeitsfelde haben wir durch erneute Studien in Natur und Experiment bestätigen und erweitern können. Die große Rasse unterscheidet sich von der kleinen: 1) durch die Morphologie: längere Flügel, weniger Maxillen-Zähne; 2) durch die Biologie: vollkommene Ueberwinterung, örtliche Verhältnisse bei der Ueberwinterung („Verstecke“), Verhalten in Gefangenschaft: geringerer Appetit (jedenfalls bei ausschließlicher Ernährung mit menschlichem Blute) und höhere Sommersterblichkeit, beschränkte Nahrungswahl der Larven.

Das gleiche gilt von dem Schlusse, daß diese Rassen nicht als Modifikationen, sondern als erblich verschieden zu betrachten sind. Außer den Versuchen, die auch diesmal deutlich das Persistieren der Rassenunterschiede ungeachtet des nivellierenden Einflusses der konstant gehaltenen Bedingungen der Umwelt ergaben, sind es noch die folgenden Punkte, die uns in unserer Auffassung bestärken, nämlich: 1) die bei den zwei Rassen nachzuweisende, positive Korrelation zwischen „Fl.“ und „M.Z.“; im Zusammenhang damit: 2) die dem Unterschied der Flügellänge entgegengesetzte Verschiedenheit der Zahl der Maxillenzähne der großen und kleinen Rasse; 3) die daraus hervorgehende Verwischung dieser Korrelation bei Nichtbeachtung der Rassengrenze, und schließlich: 4) die gerade bei der Rassenvermischung sich akzentuierende scheinbare Korrelation zwischen Flügellänge und Fetttheit.

Dagegen ist der Schluß, die kleine Rasse habe ihre Heimat in der Malariagegend (Bez. I) und die große in der malariaarmen oder -freien (Bez. II), auf Grund des Verhaltens im Winter dahin zu modifizieren, daß zwar in Bez. I die Anophelenbevölkerung (mit Vorbehalt einiger Ausnahmen) ziemlich homogen klein ist, aber in Bez. II einen stark gemischten Charakter trägt.

Dieser Umstand nimmt dem „Rassenfaktor“ einen Teil seiner Bedeutung als ausschließliche Erklärung des Anophelismus ohne Malaria. Um so bedeutender wird aber sein Wert als konkomitierende Erklärung, sobald man einen anderen Faktor: die verschiedene Häufigkeit der Anophelen in den beiden Bezirken, in Betracht zieht. Der Unterschied in den beiden Bezirken ist so groß, daß man meinen könnte, er reiche zur Erklärung aus, jedoch mit Unrecht: Der Rassenfaktor in den anophelenreichen Stationen des Bez. II

ist für die Erklärung des Fehlens der Malaria unentbehrlich. Durch die besondere Eigenschaft der großen Rasse, die im Winter zur Malariaübertragung ungeeignet wird, entzieht sich in diesem Bezirke ein nicht unbeträchtlicher Teil der Anophelenbevölkerung dieser Funktion. Und zwar ist es gerade jener Teil, der sich sonst hierzu am meisten eignen würde: die in den menschlichen Wohnungen überwinternden Anophelen.

Nur der Fall einer zahlreichen, überwiegend kleinen Anophelenbevölkerung in einer malariafreien Gegend ist schwer zu erklären, selbst nicht mit der Kombination aller genannten Faktoren. Aber bei genauerer Verwertung des größeren Schweinebestandes in den Grenzstationen des Bez. II, mit zahlreichen kleinen Anophelen (Stat. 36, 39, 46, 50), wäre es nicht unmöglich, daß dieser noch ungenügend analysierte dritte Faktor noch einmal eine Bedeutung in der Kette der erklärenden Momente gewinnt.

Zusammenfassend schließen wir, daß die lokalen Unterschiede in bezug auf: 1) die Rassenverteilung, 2) die Häufigkeit der Anophelen, 3) die Gelegenheit zur Stallablenkung, jeder für sich, nicht imstande sind, die Erscheinung des Anophelismus ohne Malaria befriedigend zu erklären, aber daß sie kombiniert hierzu in vielen Fällen genügen.

Erklärung der Tafelabbildungen.

Fig. 1. A. Flügel eines *A. maculipennis* der größeren Rasse. Länge: 130 Teilstriche, d. h. die mittlere Flügellänge dieser Rasse.

Fig. 1. B. Idem der kleineren Rasse. Länge: 119 Teilstriche, d. h. die mittlere Flügellänge dieser Rasse.

Fig. 2. A. Maxille eines *A. maculipennis* der größeren Rasse. Anzahl der Zähne 16 (fand sich bei 48 Proz. der gezüchteten Anophelen dieser Rasse und bei 28 Proz. der kleineren).

Fig. 2. B. Idem der kleineren Rasse. Anzahl der Zähne 21 (fand sich bei 10 Proz. der gezüchteten dieser Rasse und bei 3 Proz. der größeren).

Fig. 3. A. Luftpammer des Eies eines *A. maculipennis* der größeren Rasse. Anzahl der Rippen 24 (fand sich bei 32 Proz. der Eier aus Stat. 52 und bei keinen aus Stat. 4).

Fig. 3. B. Idem der kleineren Rasse. Anzahl der Rippen 15 (fand sich bei 11 Proz. der Eier aus Stat. 4 und bei keinen aus Stat. 52).

Nachdruck verboten.

Das sogen. Schlammeieber in den Jahren 1926 und 1927. Beiträge zur Symptomatologie, Epidemiologie, Pathologie und Aetiologie¹⁾.

[Aus dem Staatl. Medizinal-Untersuchungsamt Breslau.]

Von Prof. Dr. **Kathe.**

Mit 5 Abbildungen im Text und 2 Tafeln.

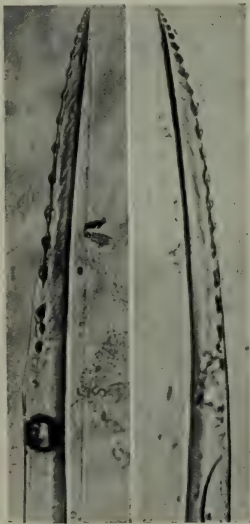
Nach langdauernden starken Niederschlägen, die zu großen Ueberschwemmungen geführt hatten, traten in der 2. Junihälfte 1926 ganz plötzlich in Schlesien, später auch in den Regierungsbezirken Frankfurt/O., Potsdam und Magde-

1) Die in der vorliegenden Arbeit zusammengefaßten Untersuchungsergebnisse habe ich seit Oktober 1926 in einer Reihe amtlicher Berichte niedergelegt. Ferner habe ich von ihnen bereits in Sitzungen medizinischer Gesellschaften (am 20. 10. 1926 und am 25. 11. 1928) Mitteilung gemacht.

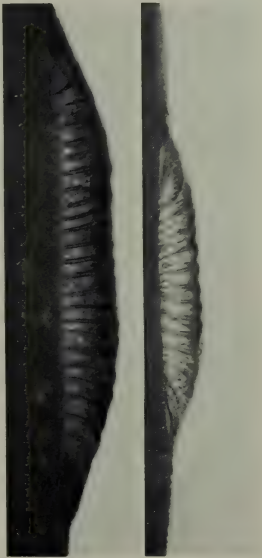
Zur Verfügung standen mir die Akten der Regierung Breslau über das Schlammeieber, die hauptsächlich die Berichte der Kreisärzte enthalten. In liebenswürdigster Weise unter-



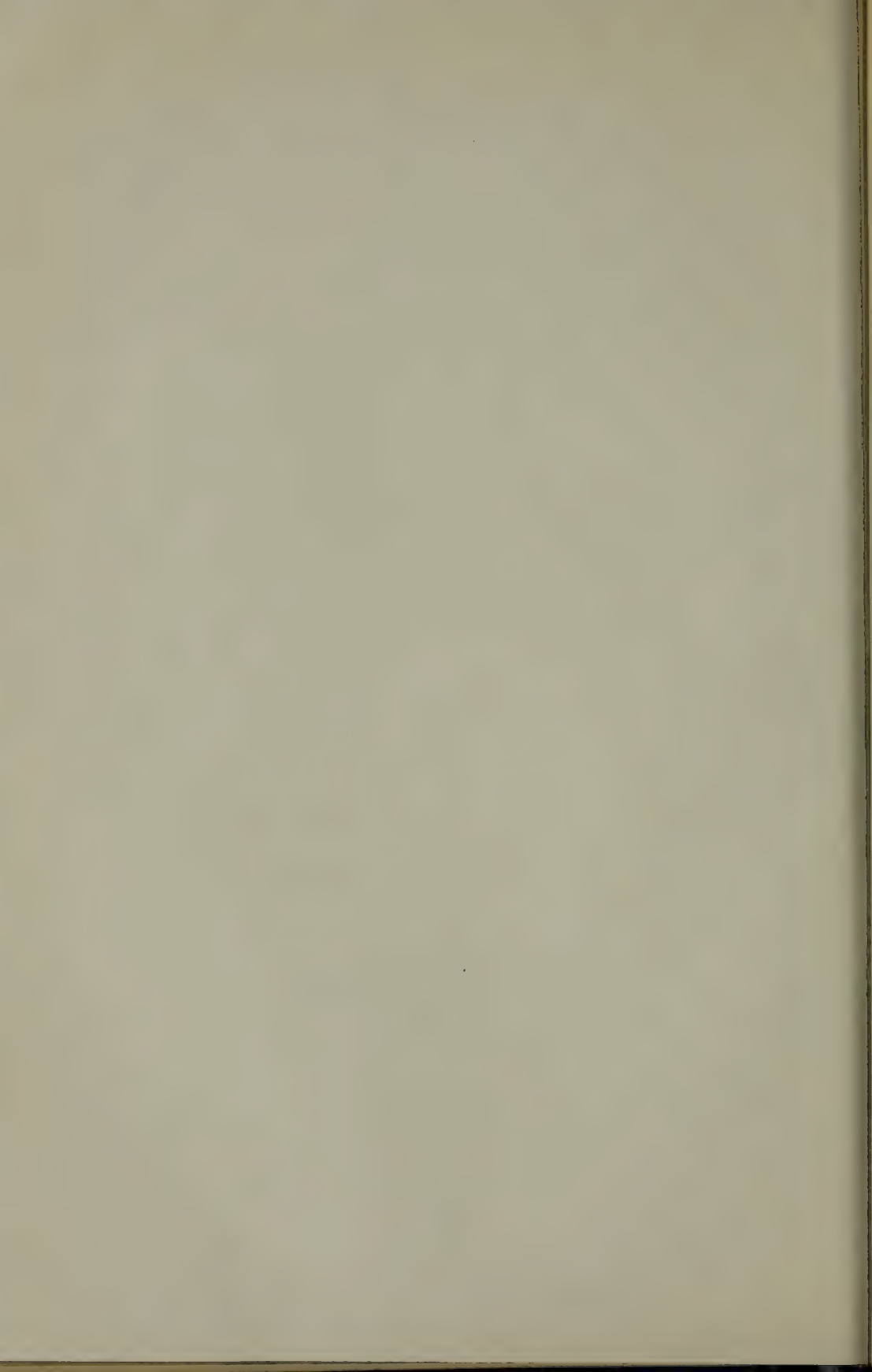
a b
Fig. 1



a b
Fig. 2



a b
Fig. 3



burg, Ende Juli dann in Südbayern fieberhafte Erkrankungen auf, die als Schlammfieber, als Ueberschwemmungs- oder auch als Erntefieber bezeichnet wurden, und die zunächst durch die Heftigkeit der Symptome und die ganz unerhört große Zahl der Befallenen berechtigten Anlaß zu den ernstesten Besorgnissen zu geben schienen. Die bei den ersten Fällen einsetzenden, auf die üblichen Infektionserreger gerichteten bakteriologisch-serologischen Untersuchungen verliefen ergebnislos. Um so bedrückender wurde die Lage durch die Ungewißheit über das Wesen der Krankheit! Bis dann der schnelle und verhältnismäßig günstige Verlauf der Einzelfälle einer optimistischeren Auffassung Raum gab.

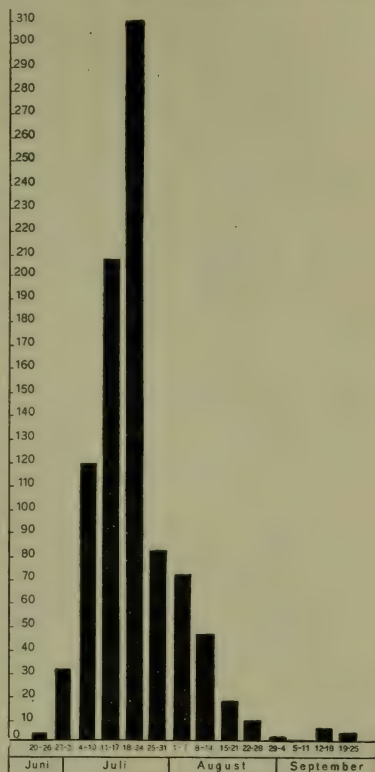
Daß es sich um eine Infektionskrankheit von ganz eigenartigem Gepräge handeln müsse, war bald außer allem Zweifel.

Die Welle der Epidemie erreichte im Juli hier in Schlesien ihren Höhepunkt, sank im August schnell ab und verlief sich im September.

Auf Grund der Bestimmungen des Reichs- bzw. Landesseuchengesetzes wurde die amtliche Meldepflicht der Erkrankungsfälle eingeführt. Für den Kreis Ohlau, in dem ich alle einschlägigen Verhältnisse besonders eingehend studieren konnte, ergibt sich, wenn man die Meldungen von je 8 Tagen zusammenfaßt, nebenstehendes Diagramm (Textfig. 1).

Zweifellos ist durch diese amtlichen Meldungen nur ein Teil, und zwar wohl ein verhältnismäßig kleiner der tatsächlich aufgetretenen Schlammfieberfälle erfaßt worden. Die Erkrankungen verliefen vielfach so leicht, daß ärztliche Hilfe nicht in Anspruch genommen wurde, besonders späterhin, als der gutartige Charakter der Seuche allgemein bekannt war. Aber selbst bei dieser Voraussetzung dürfte das Diagramm doch ein ziemlich zuverlässiges Bild des Gesamtablaufes der Epidemie von 1926 übermitteln.

Im Jahre 1927 traten in Schlesien wieder nach starken Niederschlägen und teilweisen Ueberschwemmungen in den Monaten Juli bis September fieberhafte Erkrankungen der gleichen Art auf; aber die Epidemiewelle war diesmal so flach, daß, hätten wir nicht die Erfahrungen des Vorjahres gehabt, die Fälle vielleicht zur Gruppe jener fieberhaften Erkrankungen unklarer Genese gerechnet wären, die gelegentlich und besonders in der warmen Jahreszeit zur Beobachtung gelangen.



Textfig. 1.

stützten mich bei meinen Arbeiten die Aerzte des Kreises Ohlau, der vom Schlammfieber stark heimgesucht wurde. Ganz besonders verpflichtet fühle ich mich Herrn Medizinalrat Dr. Richter, dem zuständigen Kreisarzt, und Herrn Dr. Flemming, dem Leiter des Kreiskrankenhauses. Ihnen verdanke ich es in erster Linie, daß meine Arbeiten nicht ohne Erfolg blieben.

Das Symptomenbild.

Die Krankheit setzt in der Regel ganz plötzlich und mit Heftigkeit ein. Während die Leute bei der Arbeit sind, bekommen sie bei gleichzeitiger großer Hinfälligkeit einen Schüttelfrost oder Frösteln, Schmerzen im Kopf, im Rücken und in den Gliedern, nicht selten besonders heftig in den Waden. Sie können sich kaum noch nach Hause schleppen. Die Temperatur steigt schnell auf 39–40° C und darüber. Der Puls ist beschleunigt, wenn auch nicht ganz der Körperwärme entsprechend, und vielfach klein. Die Zunge ist dick belegt; an den Rändern zeigt sie oft einen normal roten Streifen. Das Gesicht ist gedunsen und hochrot, die Augenbindehaut entzündet. Recht häufig bestehen Erscheinungen von Seiten des Magendarmkanals: Uebelkeit, Brechreiz, auch Erbrechen, heftige kolikartige Leibscherzen, Druckempfindlichkeit der Bauchdecken und des ganzen Bauches.

Werner (1), der im Auftrage der Breslauer Medizinischen Klinik im Juli 1926 mehrere Wochen im Ohlauer Kreiskrankenhaus Schlammfieberfälle beobachtet hat, hebt hervor, daß man häufig das Colon in seinem ganzen Verlauf als schmerzhaften Strang durch die Bauchdecke hindurch fühlt. Besonders empfindlich sei dabei die Ileocoecalgegend.

Ein nachher genauer zu erörternder Sektionsbefund (Darmgeschwüre) gab mir Veranlassung, über die Erscheinungen von Seiten des Magendarmkanals (Uebelkeit, Erbrechen, Schmerzhaftigkeit des Leibes usw.) nach unserer Epidemie von 1926 bei einigen der behandelnden Aerzte eine Umfrage zu veranstalten. Es waren derartige Symptome aufgetreten nach Mitteilung des Herrn Dr. Scholz in 95 Proz. aller Fälle, Dr. Bittner in den meisten Fällen, Dr. Kruszinsky in 80–90 Proz. aller Fälle.

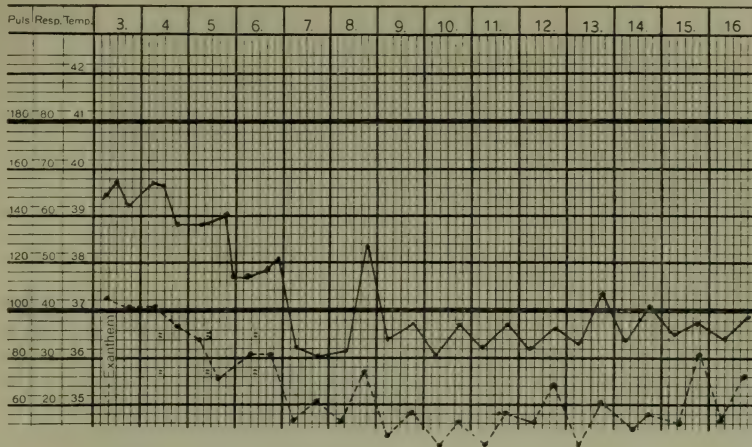
Herr Dr. Flemming schrieb mir:

„Als ich von den Darmgeschwüren hörte, war mein erster Gedanke, daß sie mit dem Schlammfieber zusammenhängen. Denn mindestens 50 Proz. aller Fälle, von den Schwerkranken vielleicht 70 Proz., haben schwere Magen-Darmerscheinungen gehabt: heftiges Erbrechen, kolikartige Schmerzen quer über den oberen Teil des Leibes, auch oft an den beiden Seiten oder besonders in der Ileocoecalgegend; Stuhlgang oft zu Beginn angehalten oder leicht diarrhöisch. Bei einer ganzen Anzahl von Fällen beherrschten diese Baucherscheinungen außer dem hohen Fieber in den ersten Tagen das Krankheitsbild völlig. Solche Fälle begannen oft plötzlich mit Erbrechen, kolikartigen Leibscherzen, dickbelegter Zunge und hohem Fieber. Zwei Fälle wurden mir mit diesen Symptomen unter der Diagnose Blinddarm- und Bauchfellentzündung zur Operation ins Krankenhaus geschickt. Die Druckschmerzhaftigkeit und Muskelspannung, besonders in der Blinddarmgegend, konnte die Diagnose berechtigt erscheinen lassen, nur die heftigen Kopf- und Rückenschmerzen und Gliederschmerzen, das meist sehr hohe Fieber und das große allgemeine Schwächegefühl ließen die Krankheit als Schlammfieber erkennen.“

Der Stuhlgang enthält selten einmal blutige Beimengungen. Die Milz ist gelegentlich fühlbar vergrößert; nach Werner (1) besteht sogar in 60 Proz. der Fälle eine Vergrößerung der Milzdämpfung um 1–2 Querfinger. Eine Leberschwellung läßt sich fast nie nachweisen. Dagegen sahen sowohl Werner als auch Schemensky (2), letzterer bei den Patienten des Küstriner Krankenhauses, Urobilin und Urobilinogen als Zeichen einer Blut- bzw. Leberschädigung.

Störungen der Nierenfunktion treten recht häufig auf. Werner fand „in vielen Fällen Albumen“; das Sediment war aber „stets frei von jeglichen pathologischen Formbestandteilen“. Während der bayrischen Epidemie von 1926 starben nach Rimpau (9) 3 Kranke an „schwerer akuter Nephritis“. 1927 zeigten von 10 im Ohlauer Kreiskrankenhaus behandelten Fällen acht erhebliche Nierenstörungen mit Eiweißmengen bis zu 1 Proz., mit hyalinen und granulierten Zylindern, roten und weißen Blutkörperchen.

Herrn Dr. Steinbrinck, Oberarzt von der Medizinischen Abteilung des hiesigen Allerheiligenhospitals (Primärarzt Prof. Dr. Erklentz), verdanke ich die interessante Mitteilung, daß nach seinen Beobachtungen beim Schlammfieber trotz Fehlens jeglicher entzündlicher Erscheinungen in der Lunge bzw.

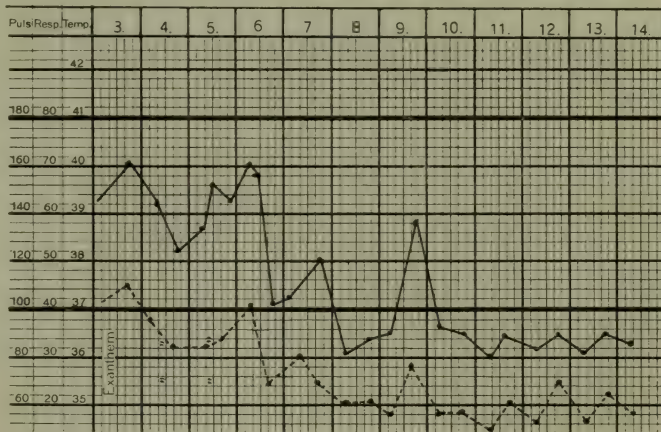


Textfig. 2.

im Pleuraraum offenbar eine Beeinträchtigung der Chlorausscheidung besteht. Bei einem leichten Falle waren allerdings die Chloride nicht vermindert; bei 2 Patienten waren sie mäßig vermindert. Bei 3 Kranken fehlten sie im Fieberstadium vollständig, um dann vom Zeitpunkt der Entfieberung an langsam steigend in etwa 4 Tagen zur Norm zurückzukehren.

Gelegentlich tritt Herpes auf, hin und wieder und dann meist am 3. oder 4.

Krankheitstage ein teils scharlachartiges, teils marnartiges, zuweilen leicht papulöses Exanthem am Rumpf und an den Gliedmaßen, das nach 3—4 Tagen wieder verschwindet, ohne im allgemeinen zur Abschuppung zu



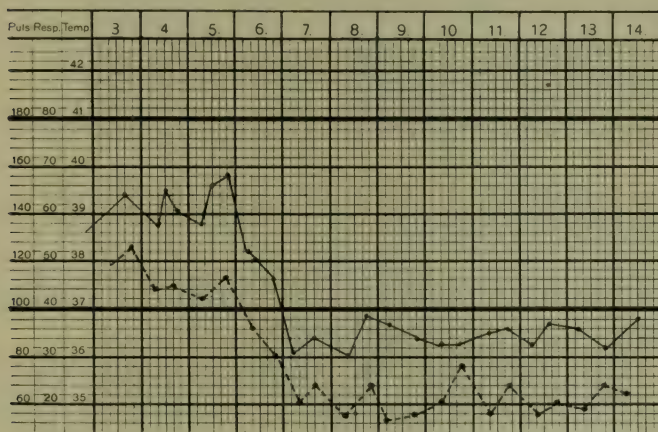
Textfig. 3.

führen. Meine Nachfrage bei 4 sehr beschäftigten Aerzten des Ohlauer Kreises ergab, daß dieses Phänomen 1926 bei ihren insgesamt etwa 500—600 Fällen 11mal beobachtet wurde. Auch in der bayrischen Epidemie ist das Exanthem im allgemeinen nur ganz vereinzelt, in einem Bezirksamt dagegen bei fast allen Kranken beobachtet worden (9). Bei nicht wenigen Patienten bestand eine Lymphadenitis besonders in der Leistengegend.

Das rote Blutbild ist nach Werner unverändert; dagegen ist oft eine Leukopenie angedeutet. Das Differentialbild zeigt in der Regel stabkernige, oft sogar regenerative Verschiebung nach links, ferner Hypeosinophilie, Mononukleose, sehr oft Lymphopenie und Auftreten von Plasmazellen.

Um den Verlauf der Temperatur- und Pulscurve zu charakterisieren, habe ich aus meinem Material 3 typische Fälle ausgewählt. Nach mehrtägiger Kontinua fällt das Fieber, gelegentlich unter Schweißausbrüchen, lytisch oder kritisch ab. Meist am 6. oder 7. Tage ist die Körperwärme bei gleichzeitiger erheblicher Besserung des Allgemeinbefindens wieder normal. Allerdings erfolgt bei einem nicht geringen Teil der Fälle unter abermaliger kurzdauernder Verschlechterung auch des Allgemeinbefindens oft schon am nächsten oder übernächsten Tage ein erneuter vorübergehender relapsartiger Temperaturanstieg (Textfig. 2—4).

Die Rekonvaleszenz ist im allgemeinen ungestört, wenn auch Kopfschmerzen und Mattigkeit noch länger anhalten können.



Textfig. 4.

Hin und wieder treten schon in der Fieberperiode, zuweilen auch erst während der Genesung Komplikationen besonders von Seiten des Nervensystems auf. Auf der Höhe des Fiebers kommt es gelegentlich zu Somnolenz und Delirien. In der bayrischen Epidemie sind vorübergehende Lähmungen der unteren Extremitäten und meningozebrale Erscheinungen beobachtet worden.

In dieses Gebiet gehört offenbar auch ein Fall, den wir 1926 beobachteten: ein junger Mann erkrankte unter den typischen Erscheinungen des Schlammfiebers; es trat auch das Exanthem auf. Nach 5 Tagen vorübergehende Entfieberung; dann wieder Anstieg der Temperatur, Erscheinungen der Meningitis. Liquorbefund: Nonne-Apelt +, Nissl 9 Teilstriche, starke Zellvermehrung, keine Erreger. Nach 8 Tagen Ausgang der Krankheit in Heilung.

Im schlesischen Kreise Frankenstein beobachteten die Aerzte nicht selten Neuralgien bzw. Neuritiden als Nachkrankheit. In der bayrischen Epidemie wurden als Komplikation häufig Herzmuskelerkrankungen festgestellt. In Schlesien haben wir sie selten gesehen; ich bin aber in der Lage, die überaus charakteristischen Veränderungen am Herzmuskel des einen Falles bildlich wiederzugeben (s. Fig. 8).

War das, mit wenigen Strichen gezeichnet, das Symptomenbild des Schlammfiebers, wie wir es 1926/27 sahen, so möchte ich doch nochmals ausdrücklich darauf hinweisen, daß die einzelnen Fälle nicht nur hinsichtlich der Schwere der Erscheinungen, sondern auch bezüglich der Kombinationen der Symptome oft stark von einander abweichen.

Uns Aerzten einer jüngeren Generation, die wir erst nach der Jahrhundert-

wende in die berufliche Tätigkeit eingetreten waren, fehlte die Erinnerung an ein ähnliches eindrucksvolles Erlebnis, wie es der Ausbruch dieser Schlammfieberepidemie von 1926 darstellt. Aber unter den älteren Kollegen, die vor 35 Jahren in Schlesien tätig gewesen, wurden Stimmen laut, daß bereits 1891 unter den gleichen Bedingungen, d. h. nach ausgedehnten Ueberschwemmungen der Oder und ihrer Nebenflüsse, ein ähnlicher Seuchenausbruch erfolgte.

Wir verfügen über eine ganze Reihe eingehender Darstellungen der Epidemie von 1891. Und ein Vergleich der damaligen Aufzeichnungen über Symptomatologie und Epidemiologie der Erkrankungen mit dem Krankheitsbilde, welches wir jetzt gesehen, führt mit völliger Sicherheit zu dem Schlusse, daß es sich um ein und dieselbe Affektion handelt. Friedrich Müller (3), damals noch Leiter der Breslauer Medizinischen Universitätspoliklinik, hat 1894 seine eigenen Beobachtungen sowie die vorher schon erfolgten Veröffentlichungen Schmidtmanns (4) und Schultes (8) aus Oberschlesien, Neumanns (5) aus dem Kreise Glogau und Dietrichs (6) aus dem Kreise Liebenwerda sowie das Gutachten von Gerhardt und Rubner (7) zu einer ausführlichen Darstellung zusammengefaßt, die ein überaus klares, anschauliches Bild von der Schlammfieberepidemie von 1891 gibt.

Auch damals waren schon im März, dann wieder im Juni in den Niederungen der Oder und ihrer Nebenflüsse wie auch in denen der schwarzen Elster nach starken Regengüssen große Gebiete überschwemmt worden. Noch im Juni traten die ersten Erkrankungen auf, die von den Aerzten zunächst als Typhus, Typhoid, Scharlach, Fleckfieber, Influenza, aber auch schon als „unbekannte Krankheit“ gedeutet wurden. Im Juli entwickelte sich die Epidemie zu voller Höhe. Schätzungsweise [Schmidtmann (4)] erkrankte $\frac{1}{5}$ der Bevölkerung des Ueberschwemmungsgebietes, so daß im August die amtliche Meldepflicht eingeführt wurde.

Für die oberschlesische Epidemie von 1891 im allgemeinen und für die von Schulte (8) beschriebene in der Coseler Garnison im besonderen ist ein Symptom kennzeichnend, das wir zwar auch 1926/27 sahen, doch ungleich seltener: das Exanthem. Daher auch damals die Verwechslung der Affektion mit Scharlach und Fleckfieber. Bei 28 seiner 33 erkrankten Soldaten sah Schulte den Ausschlag. In einzelnen Fällen beobachtete er auch deutliche Petechien in der Haut.

Hinsichtlich des Exanthems zeigte die Epidemie große lokale Verschiedenheiten. Während es in Cosel die Regel, trat es in anderen Gegenden seltener auf; in manchen Gebieten wurde es überhaupt nicht beobachtet.

Die Temperatur- und Pulskurven von 1891 gleichen, wie aus den Arbeiten von Schulte und Fr. Müller hervorgeht, durchaus den unsrigen, auch hinsichtlich der kurzdauernden Nachfieber. Damals wurden „in nicht ganz wenigen Fällen“ auch kritische Entfieberungen unter Schweißausbrüchen beobachtet. Allgemeine Lymphdrüenschwellung trat oft auf. Milzschwellungen waren häufig, „wenn auch nicht konstant nachweisbar“. Nicht unerhebliche Leberschwellungen, die bisweilen vorhanden waren, verliefen meist ohne Ikterus. Doch ist mehrfach auch Gelbsucht beobachtet worden, in Oppeln allein fünfmal. Ich lege auf die Feststellung dieser Tatsache im Hinblick auf einen von mir genau untersuchten und nachher noch zu besprechenden Fall besonderen Wert.

Die Beobachtungen über Erscheinungen von Seiten der Nieren gleichen durchaus denen während der Epidemie von 1926/27. Lichtwitz (Briefliche Mitteilungen an Fr. Müller) sah als Nachkrankheit vereinzelt „Nierenentzündung und hydropische Anschwellung“ und Dietrich (6) 2mal Nephritis mit urämischen Krämpfen. Komplikationen von Seiten des Herzens und der

Lungen waren auch damals selten. Psychische Störungen wurden hin und wieder beobachtet; mehrfach kam es zum Suizid in einem Zustande melancholischer Verwirrtheit. Auch eigentümliche Sehstörungen wurden 1891 wie 1926 beobachtet.

Die Prognose des Schlammfiebers ist, wie die Erfahrungen der beiden großen Seuchenausbrüche zeigen, im allgemeinen sehr günstig. 1891 sah Dietrich „einzelne Fälle unter den Erscheinungen der Peritonitis tödlich enden.“ Lichtwitz (Ohlau) hatte unter seinen zahlreichen Kranken 2 letale Ausgänge; einer starb an Herzparalyse, der andere an „innerer Blutung.“

Aus der bayrischen Epidemie von 1926 wurden 25 Todesfälle bekannt [Rimpau (9)]; es starben

unter den Erscheinungen der „Encephalitis lethargica“	7,
an Herzschwäche	6,
an schwerer akuter Nephritis	3,
an Pneumonie	3,
an akutem Alkoholismus	1,
es fehlen Angaben bei	5.

Die schlesische Epidemie von 1926 hatte einen sicheren Toten. Ein zweiter Fall, der sich gleich in der ersten Zeit der Epidemie ereignete, war nicht genügend beobachtet, er konnte auch nicht obduziert werden und läßt sich infolgedessen nicht zuverlässig verwerten. Auch 1927 starb ein Schlammfieberkranker. Bei beiden war, wie ich durch Sektion feststellte, eine eitrige Peritonitis die Todesursache. Ich komme auf die Befunde nachher noch eingehend zurück.—

Das Symptomenbild des sogenannten Schlammfiebers, das ich zu zeichnen versucht habe, ist nicht einheitlich, und zwar nicht nur, was die beiden durch mehr als drei Jahrzehnte getrennten Seuchenausbrüche anbetrifft; sondern auch innerhalb der gleichen Epidemie machten sich erhebliche Abweichungen von einem Grundtypus bemerkbar. Auch Fr. Müller (3) stand 1891 unter dem Eindruck dieser Variabilität des Krankheitsbildes, besonders hinsichtlich des Exanthems. Er faßte seine Beobachtungen in die Worte zusammen, die heute noch ihre volle Gültigkeit haben: „Diese großen Verschiedenheiten in der Häufigkeit des Exanthems an den einzelnen Orten können unmöglich auf Zufälligkeiten in der Beobachtung zurückgeführt werden, wir haben es hier mit einer Krankheit von außerordentlich variablen Charakter zu tun.“

Die Epidemiologie

zeichnet sich scharf ab, und der Seuchenausbruch von 1926 ist nach dieser Richtung ein getreues Abbild der Massenerkrankungen von 1891. Wie bereits erwähnt, hatten schon im März 1891 große Ueberschwemmungen der Oder und ihrer Nebenflüsse stattgefunden, und auch im März und Juni ufernten sie mehrmals aus, so daß der Boden auf weite Strecken vom Wasser durchtränkt und morastig wurde. Das Gleiche war im Gebiete der schwarzen Elster der Fall. Hier setzte Ende Mai, im Stromgebiet der Oder Ende Juni die Epidemie ein; mit dem Ausgange des Sommers erreichte sie im wesentlichen ihr Ende.

Im Juni 1926 entwickelten sich im Anschluß an langdauernde starke Niederschläge ausgedehnte Ueberschwemmungen in den Niederungen einzelner Ströme und ihrer Zuflüsse, der Oder, der Elbe und der Donau von Ulm bis westlich von Passau. In Schlesien setzten bereits in der zweiten Hälfte des Juni, in Bayern anscheinend erst Ende Juli die Erkrankungen ein.

Nach den übereinstimmenden Angaben aller Beobachter erkrankten vor 37 Jahren Personen, die mit landwirtschaftlichen oder Erdarbeiten

beschäftigt waren; vor allem Drainagearbeiter, und zwar nur insoweit, als sie im Wasser oder auf versumpften Wiesen oder Feldern gearbeitet, mit dem Wasser, dem schlammigen Boden oder auch nur durchnässten Heu in Berührung gekommen waren. Auch nach dem Trinken von Ueberschwemmungswasser sollen damals Erkrankungen aufgetreten sein [Dietrich (6)]. Die städtische Bevölkerung blieb verschont, sofern sie nicht im Ueberschwemmungsgebiet beschäftigt war.

Ganz das gleiche Bild zeigt die Epidemie von 1926/27. Schon aus dem 1. amtlichen Bericht von Marmann (10) geht das hervor; und alle weiteren Beobachtungen haben es bestätigt. Die Erkrankten hatten auf überschwemmten oder überflutet gewesenen Wiesen gearbeitet. Vielfach hatten sie stundenlang im Wasser gestanden, um Deiche zu verstärken oder Heu ins Trockene zu bringen. Andere der Erkrankten hatten im Ueberschwemmungswasser gebadet. Wieder wurde die städtische Bevölkerung im Gegensatz zu den Landbewohnern völlig oder doch nahezu völlig verschont.

Höchst bedeutsam war, daß innerhalb der Familien nur die Mitglieder erkrankten, die Arbeiten auf den überschwemmten Wiesen und Feldern verrichtet oder dort gebadet hatten; nicht dagegen ihre mit ihnen in engster Gemeinschaft unter oft sehr ungünstigen Wohnungsverhältnissen lebenden Angehörigen, die zu Haus geblieben waren. Kontakte wurden mit Sicherheit in keinem Falle nachgewiesen.

Im Kreise Ohlau hatten von 786 erkrankten Personen, über die verwertbare Meldungen vorliegen, gearbeitet bzw. gebadet auf überschwemmten bzw. versumpften

Wiesen	761 Personen,
auf überschwemmten	
Feldern gearbeitet	22 „
in Gärten gearbeitet	3 „

In einzelnen höher gelegenen Gebieten Niederschlesiens, die nicht überschwemmt wurden, traten gleichwohl Schlammfiebererkrankungen auf. Auch hier hatten die langdauernden Niederschläge zu einer starken Durchnässung des Bodens geführt.

Beachtenswert sind Mitteilungen aus den Kreisen Frankenstein und Schweidnitz, daß dort Schlammfiebererkrankungen bei Schweizern, Melkern und sonstigem Stallpersonal auftraten, die zwar nicht selbst auf den überschwemmten Gebieten gearbeitet, aber nasses oder verschlammtes Grünfutter verfüttert hatten.

Ueber Beteiligung der verschiedenen Altersstufen an den Erkrankungen stellte ich aus den Meldungen des Kreises Ohlau folgendes fest:

Es erkrankten von	
Personen des 1. Lebensjahrzehntes	11
„ „ 2. „	233
„ „ 3. „	134
„ „ 4. „	113
„ „ 5. „	68
„ „ 6. „ u. darüber	64.

Auch in Bayern [Rimpau (9)] erkrankten „fast nur jugendliche Personen zwischen 15 und 40 Jahren.“

Was die Zahl der leichten bzw. schweren Fälle und ihre Verteilung auf die beiden Geschlechter bei der schlesischen Epidemie von 1926 anbetrifft, so habe ich aus den Meldungen der Aerzte des Kreises Ohlau nach der Richtung folgendes ermitteln können:

Von 870 Erkrankten waren	
männlichen Geschlechts	524,
weiblichen Geschlechts	346.
Von 373 als leicht erkrankt Gemeldeten waren	
männlichen Geschlechts	217,
weiblichen Geschlechts	156.
Von 450 als schwer erkrankt Gemeldeten waren	
männlichen Geschlechts	280,
weiblichen Geschlechts	170.

Da wohl anzunehmen ist, daß mehr Männer als Frauen auf dem überschwemmten Gelände gearbeitet haben, läßt sich aus den angeführten Zahlen schließen, daß beide Geschlechter gleicherweise befallen wurden und für sie auch kein Unterschied in der Schwere der Erkrankung bestand.

Allerdings wurde 1891 das Schlammfieber im Volksmunde stellenweise auch als „Weiberkrankheit“ bezeichnet. Fr. Müller hat aber bereits damals daraufhingewiesen, daß in diesen Gegenden die Feldarbeit hauptsächlich von Frauen geleistet würde.

Aus der erwähnten recht unterschiedlichen Beteiligung der einzelnen Altersstufen am Schlammfieber läßt sich doch vielleicht auf eine besondere Altersdisposition schließen und zwar in dem Sinne, daß das 2.—4. Jahrzehnt eine erhöhte Erkrankungsbereitschaft besitzt. Dementsprechend müßten die älteren Jahrgänge über eine möglicherweise durch früher überstandene derartige Erkrankungen zu erklärende Immunität verfügen.

Eine solche Auffassung würde voraussetzen, daß das Schlammfieber nicht nur in den beiden Seuchenausbrüchen von 1891 und 1926/27 aufgetreten ist, sondern daß es eine gewisse endemische Verbreitung hat. Diese Annahme erscheint nicht ganz unberechtigt. Kornfeld (zit. nach Fr. Müller) hat im oberschlesischen Kreise Grottkau im Sommer 1882 vorwiegend unter ländlichen Arbeitern, Knechten und Mägden eine Epidemie von 83 Erkrankungen beobachtet, die offenbar mit dem Schlammfieber identisch waren. Auch Dietrich hat schon 1889 und 1890 im Kreise Liebenwerda kleinere derartige Seuchenausbrüche festgestellt.

Herrn Regierungsmedizinalrat Dr. Seifert verdanke ich weitere entsprechende Mitteilungen. Das Jahr 1882 hat auch im Ueberschwemmungsgebiet der Plane (Belzig und Lehnin) im Regierungsbezirk Potsdam eine Fieber-epidemie gebracht. Es erkrankten im August und September 85 Personen unter Erscheinungen, die offenbar mit denen des Schlammfiebers übereinstimmten. 1891 traten in Belzig erneut derartige Erkrankungen auf. Im Kreise Liebenwerda, der bereits 1891, wie erwähnt, von Schlammfieber schwer heimgesucht war, kamen im Mai-Juni 1894 wieder etwa 40, im Juli-August 1899 „einige Fälle“ zur Beobachtung. Das Jahr 1903 scheint eine Reihe kleinerer Schlammfieber-epidemien im Gefolge gehabt zu haben, und zwar im Ueberschwemmungsgebiet der Oder und der Warthe. Im Ohlauer Krankenhause wurden 15 Fälle behandelt. In der damaligen Provinz Posen flackerte die Epidemie an verschiedenen Stellen auf; über 100 Fälle sollen zur amtlichen Kenntnis gekommen sein.

Fr. Müller (3) hatte schon darauf aufmerksam gemacht, daß eine ganze Reihe von Epidemien fieberhafter Erkrankungen beim Militär beobachtet sind, bei denen das Baden in verunreinigtem Wasser oder der Dienst auf überschwemmtem Gelände von ausschlaggebender epidemiologischer Bedeutung gewesen ist. So erkrankten, wie Globig (34) berichtet, 1910 im August und September 84 Soldaten in Lehe, die in der Geeste bebadet hatten, unter Symptomen, die nahezu vollkommen denen des Schlammfiebers gleichen. Auch Rezidive und Exantheme fehlten nicht.

Im Sinne einer gewissen Durchseuchung der einheimischen Bevölkerung lassen sich auch folgende Feststellungen verwerten: Fr. Müller erwähnt, daß 1891 hauptsächlich die zugereisten Knechte und Mägde, besonders aber die polnischen Saisonarbeiter erkrankt seien. Und der Bezirksarzt von Straubing berichtet 1926 [nach Rimpau (9)]: „Besonders empfänglich zeigten sich die zugereisten Erntearbeiter; bei der einheimischen Bevölkerung konnte, wenn auch nicht durchweg, eine gewisse Immunität gegen die Infektion beobachtet werden.“

Unsere Vorstellungen von der Epidemiologie des Schlammfiebers lassen sich demnach dahin kurz zusammenfassen: Die großen Seuchenausbrüche sind örtlich und zeitlich gebunden an ausgedehnte Ueberschwemmungen ländlicher Gebiete in der Sommerzeit, zum mindesten an starke Durchnässungen des Bodens. Während der großen Epidemien erkrankten anscheinend nur solche Personen, die mit dem Ueberschwemmungswasser, dem verschlammten Boden oder durchnässten Grünfutter usw. in längerdauernde Berührung gekommen sind, das in diesen Stoffen enthaltene bzw. ihm anhaftende Virus durch die Haut (kleine Schrunden) oder per os aufgenommen haben. Eine Uebertragung von Mensch zu Mensch oder vermittelt durch Zwischenträger — man hatte zunächst an Milben oder an fliegende Insekten mit geringem Flugbereich gedacht — scheint nicht in Frage zu kommen, zum wenigsten keine bemerkenswerte Rolle zu spielen.

Nach den großen Seuchenausbrüchen besteht wohl zunächst ein gewisser Immunitätszustand der Bevölkerung, bis nach etwa einem Menschenalter eine neue Generation von zum mindesten wesentlich geringerer Seuchenfestigkeit herangewachsen ist. Sind dann also die disponierenden Bedingungen vorhanden und ergibt sich für die landwirtschaftlich tätige Bevölkerung der Faktor der maximal gesteigerten Exposition durch ausgedehnte Ueberschwemmungen bei warmer Außentemperatur, so kann es zu Massenerkrankungen kommen. In der Zwischenzeit dürften sporadische Fälle, gelegentlich auch gehäufte, vorkommen unter ähnlichen äußeren Umständen oder unter epidemiologischen Verhältnissen, die wir noch nicht übersehen.

Alles Momente, die dafür sprechen, daß ein belebter Krankheitserreger die Ursache des sogenannten Schlammfiebers ist.

Pathologische Anatomie.

Wenn auch 1926/27 in Bayern eine ganze Reihe von Todesfällen bei Schlammfiebererkrankungen eintraten, so liegen gleichwohl, abgesehen von meinen zwei Fällen, keine Sektionsbefunde vor. Auch 1891 sind, wie Fr. Müller (3) in seiner zusammenfassenden Arbeit erwähnt, Sektionen nicht vorgenommen worden. Ich kann also den Erörterungen über die durch das sogenannte Schlammfieber verursachten Organveränderungen lediglich die Ergebnisse meiner Obduktionen zugrunde legen.

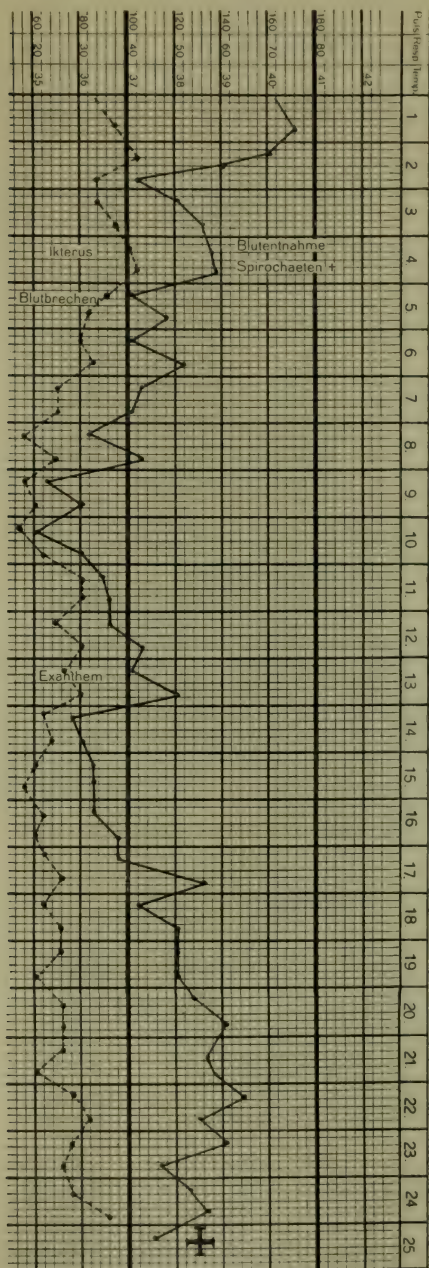
1. Fall.

H. Reimann¹⁾, 23 Jahre, hatte auf überschwemmten Wiesen gearbeitet; er erkrankte am 11. 8. 26 „mit den typischen Erscheinungen des Schlammfiebers: Fieber, Kopf- und Kreuzschmerzen, Schmerzen in den Beinen, belegter Zunge.“ Temperatur steigt auf 41,5° C. Uebelkeit, Brechreiz, Schmerzen in der Magenegend, Durchfall; Zahngeschwür, das komplizierend hinzutritt, heilt glatt nach Inzision am 14. 8. Am 7. Krankheitstage Temperatur nach Schweißausbruch morgens 35° C, abends 38,8° C. In den nächsten Tagen wieder Verschlechterung des Zustandes. Am 21. 8. Fieber bis 41° C. Abends Einlieferung ins Wansener Krankenhaus; Temperatur 37,2° C, abends 41° C. Puls zwischen 100 und 120. Aufstoßen, Brechreiz, Druck-

1) Die Krankengeschichte verdanke ich Herrn Dr. Bittner in Wansen.

empfindlichkeit des Bauches. Nachts Herzschwäche; Temp. 39° C. Puls 60, klein. Am 24. 8., also am 14. Krankheitstage, Exitus.

Textfig. 5.



Ich konnte am 25. 8. die Sektion der Brust- und Bauchhöhle ausführen, die folgenden Befund ergab: (Auszug aus dem Protokoll): Ziemlich fortgeschrittene Fäulnis. Leichte entzündliche Schwellung der Tonsillen. Hypostasen in den Lungen. Diffuse eitrige Peritonitis, ausgehend von einer Perforation des Darmes im untersten Ileum. Milz $9,5 \times 7 \times 3,5$ cm (also minimal vergrößert), von leidlicher Konsistenz. Zeichnung der Schnittfläche undeutlich. Leber $31 \times 15 \times 8$ cm; von guter Konsistenz. Läppchenzeichnung auf bräunlich-rötlicher Schnittfläche wenig deutlich. Gallenblase enthält reichlich mäßig zähflüssige trüb-gelb-bräunliche Galle; Gallenwege durchgängig. Magenschleimhaut erweicht, schmutzig grau-rötlich, stellenweise lebhaft Gefäßinjektion. Bauchspeicheldrüse weich, sonst o. B. Nebennieren o. B. Nieren nicht vergrößert, etwas weich. Kapsel leicht abziehbar. Oberfläche glatt, braunrötlich. Schnittfläche braunrötlich, trüb. Rinde c. 6 mm breit, quillt etwas über. Rinden von Marksubstanz deutlich geschieden. Nierenbecken, Harnleiter, Harnblase o. B. Darm: Schleimhaut des Zwölffingerdarms, der ziemlich dünnflüssigen, gelblich-bräunlichen Inhalt aufweist, gelblich-grau gefärbt. Im oberen Dünndarm kein pathologischer Befund, abgesehen von mäßigem Oedem der Schleimhaut. Im untersten Dünndarm und im Coecum zeigt die Schleimhaut entzündliche Veränderungen und Geschwürbildungen. Die Geschwüre, die zum Teil wenigstens im Bereiche von Payersschen Haufen lokalisiert und linsen- bis 10 Pfg.-Stück groß sind, zeigen alle Uebergänge von oberflächlicher Verschorfung bis zur Freilegung der Muskularis; das eine ist in die Bauchhöhle perforiert. Die Geschwüre sind teils rundlich, teils oval gestaltet, im letzteren Falle mehr quer als längs gestellt (Fig. 1). Dickdarm, abgesehen vom Coecum, o. B.; ebenso Rectum. Die Mesenterialdrüsen etwas geschwollen, weich, auf der Schnittfläche grau-rötlich gefärbt.

Die histologische Untersuchung der Leichenorgane ergab, kurz zusammengefaßt, folgendes:

Darmgeschwüre: mikroskopisch lassen sich alle Uebergänge der Geschwürsbildung von entzündlicher Schwellung im Bereiche der lymphoiden Apparate und beginnender Nekrose der Schleim-

haut bis zu tiefgreifenden, die ganze Darmwand durchsetzenden Zerstörungen verfolgen (Fig. 2 u. 3). Die Mesenterialdrüsen zeigen das Bild akuter Lymphadenitis. Milz: kongestive Hyperämie, die das Bild beherrscht, so daß die Malpighischen Körperchen zurücktreten. Leber: vereinzelte Herde kleinzelliger Infiltration, teils im Bereiche des periportal Bindegewebes, teils innerhalb der Acini gelegen. Keine fettige Degeneration der Leberzellen.

Niere: Glomeruli und gerade Kanälchen fast intakt. Epithel der Contorti meist kernlos, schollig zerfallen. Nebennieren, Pankreas o. B. Herz: o. B. Lungen: Hyperämie, stellenweise etwas Exsudat in den Alveolen. Tonsillen: Hyperämie. Bakteriologischer Befund: s. Seite 297.

2. Fall.

Paul Baron, 18 Jahre, Friseurgehilfe, hatte im Juli 1927 wiederholt in der Ohle gebadet und war mit bloßen Füßen über versumpfte Wiesen gelaufen, zuletzt am 1. 8. Am 4. 8. erkrankte er plötzlich mit Kopfweh, Frost, hohem Fieber, Appetitlosigkeit, Magenschmerzen, Kreuz- und Wadenschmerzen. Noch am gleichen Tage Einlieferung ins Ohlauer Krankenhaus. Bezüglich des Krankheitsverlaufes vergl. nachstehende Temperaturkurve (Textfig. 5).

Patient macht schwerkranken Eindruck. Zunge dick belegt. Am 4. Krankheitstage Ikterus, am 5. Blutbrechen. Leber und Milz nicht nachweisbar vergrößert. Harn braunbierfarben, E. +, keine Zylinder. Stuhl normal gefärbt. (Ueber die Ergebnisse der am 8. 8. angelegten Blutkulturen s. S. 297). Entfieberung am 8. Tage; am 14. Tage erneuter Temperaturanstieg. Auftreten eines „Schlammfieberexanthems“. Rückgang der Temperatur; vom 17. Tage an erneuter Anstieg. Peritonitische Erscheinungen. Am 25. Tage Exitus. Am Tage darauf konnte ich die Sektion der Brust- (ohne Halsorgane) und der Bauchhöhle ausführen.

Auszug aus dem Sektionsprotokoll: Gelbsucht. Keine Blutungen in der Haut und den sichtbaren Schleimhäuten. Diffuse fibrinöse eitrige Peritonitis. Lungen: Hyperämie, Oedem, Hypostasen; subpleurale Ecchymosen. Herz: subepikardiale Blutungen. Herzmuskel leidlich fest, bräunlich-rötlich, etwas trüb auf der Schnittfläche. Milz: $15 \times 9 \times 3,5$ cm, ziemlich weich. Schnittfläche dunkel-braunrot, ohne deutliche Zeichnung. Leber $27 \times 19 \times 7$ cm, leidlich fest. Schnittfläche bräunlich-gelblich-ikterisch, trüb. Ziemlich deutliche Lappchenzeichnung. In der Gallenblase grünliche Galle. Gallenwege durchgängig. Magen: leer, Schleimhaut erweicht, leicht ikterisch, zeigt massenhafte meist ganz oberflächliche bis linsengroße, in der Regel rundliche Substanzverluste, deren Grund bisweilen bräunlich verfärbt ist (Blutung). Stellenweise bohngroße, bis in die Muskularis reichende, ziemlich glattrandige Ulcera, deren Grund von bräunlichen Massen bedeckt ist (Fig. 4). Im Fundus frische Hämorrhagien. Zwölffingerdarm: gallig-verfärbte Schleimhaut. Dünn- und Dickdarm, Pankreas, abgesehen von leicht gelblicher Verfärbung, o. B. Nieren: $15 \times 7 - 8 \times 3,5$ cm weich. Unter der gespannten Kapsel Blutungen. Oberfläche glatt, rot, mit einem Stich ins gelbliche. Schnittfläche trüb, rot-gelblich gefärbt, undeutlich gezeichnet. Rinde überquellend. Nierenbecken, Harnleiter, Blase o. B. Muskulatur, abgesehen vom Ikterus, ohne makroskopisch erkennbare Veränderungen.

Kurz zusammengefaßt die wichtigsten histologischen Befunde: Nieren: schwere akute Parenchym und Interstitium betreffende Entzündung, die nur die Glomeruli einigermaßen intakt läßt (Fig. 5 und 6). Die entzündliche kleinzellige Infiltration ist teils diffus, teils ausgesprochen herdförmig angeordnet; da und dort kleine Blutungen im Interstitium. Epithel der Contorti mehr oder minder geschädigt, teilweise im Zerfall. In den geraden Harnkanälchen der Markstrahlen in der Rinde gallig gefärbte Zylinder aus schollig-krümeligen Massen, die sich aus Eiweiß und mehr oder minder zerfallenden Epithelien zusammensetzen. In den geraden Kanälchen der Marksubstanz sind diese Veränderungen noch viel ausgeprägter: Kanälchen durch die Zylinder und in Zerfall begriffenen Epithelmassen geradezu vollgepfropft, verstopft und durch die gestaute Harnflüssigkeit erweitert.

Leber: (Fig. 7) zeigt das Bild akuter parenchymatöser Degeneration. Verfettung und Nekrose der Leberzellen, die sich teilweise in Dissoziation befinden. Zentrale Abschnitte der Läppchen stark mit Gallenfarbstoff durchsetzt. In den Gallenkapillaren stellenweise Gallenthromben. Im periportal Bindegewebe geringe kleinzellige Infiltration. Gallenblasenwand: das auskleidende Epithel völlig geschwunden, das lockere Bindegewebe der Mucosa von zahlreichen Rundzellen und gelapptkernigen Leukozyten durchsetzt. Diese Infiltration reicht bis in die Muskularis. Die dem Lumen zugekehrten Schichten der Schleimhaut sind wie nekrotisiert, kernlos. — Pankreas, Nebennieren, Mesenterialdrüsen o. B. — Magen, wand: entsprechend dem makroskopischen Befund hämorrhagische Erosion mit Uebergängen bis zu tiefgreifenden Ulcera, deren Ränder und Grund nekrotisch, kleinzellig infiltriert und von Blutungen durchsetzt sind. Milz: Hyperämie, Abgrenzung der Malpighischen Körperchen verwischt. Zellen der Pulpa zeigen Erythrophagozytosen.

Herzmuskel (Fig. 8): Nekrosen von einzelnen Faserzügen. Die nekrotischen Herzmuskelzellen, gallig imbibiert, sind schollig-krümelig zerfallen. In der Umgebung kleinzellige Infiltration und Fibroblasten. Stellenweise regenerative Vorgänge in Gestalt von noch nicht differenzierten, mehrkernigen Muskelzellen. In der Muskulatur des Rektus abdom. und der Wade sehr spärliche, meist auf einzelne Muskelfasern beschränkte hyaline Degenerationen. Kleinzellige Infiltrationen im umgebenden Bindegewebe. Regenerationen in Gestalt von Wucherungen der Sarkolemkerne. (Bakteriologischer Befund s. S. 297).

Kritisch bewerten möchte ich diese beiden Fälle erst später (s. Seite 302). Hier darf ich nur kurz zusammenfassend folgendes bemerken: Reimann und Baron erkrankten zur Zeit einer Schlammfieberepidemie unter den charakteristischen Erscheinungen dieser Affektion, nachdem sie sich den oben geschilderten Infektionsmöglichkeiten durch Arbeiten bzw. Barfußgehen auf überschwemmtem oder versumpftem Boden bzw. durch Baden ausgesetzt hatten. Bei dem einen trat als Komplikation ein Ikterus hinzu. Beide starben an einer Peritonitis, die in dem einen Falle von Darmgeschwüren, im anderen vielleicht von hämorrhagischen Ulcera des Magens ausgegangen war. In beiden Fällen waren die Nieren und die Leber geschädigt, in dem einen sehr schwer. Die Milz war in beiden Fällen nicht erheblich vergrößert. In dem einen Fall bestand eine Myokarditis.

Aetiologie.

Schon während der Epidemie von 1891 sind bakteriologisch-mikroskopische Untersuchungen vorgenommen worden, und zwar von Dietrich (6). Da man an nahe Beziehungen zum Rückfallfieber und zur Malaria dachte, fahndete er auf diese oder ähnliche Erreger. Mit negativem Ergebnis.

Die Epidemie von 1926/27 gab nun Gelegenheit, erneut und mit den neuesten Verfahren zu versuchen, das ätiologische Problem zu lösen. Nach den verschiedenen Veröffentlichungen sind derartige Arbeiten im Hygienischen Universitätsinstitut in Breslau [Prausnitz und Lubinski (11)], in der Staatl. bakteriologischen Untersuchungsanstalt in München [Rimpau (9)] und in unserem Institut durchgeführt worden. Die Versuche von Prausnitz und Lubinski, durch Injektionen von Zitratblut Schlammfieberkranker auf Meerschweinchen, Kaninchen, Ratten, Mäuse und einen Affen eine Infektion oder doch wenigstens Reaktionen zu erzielen, fielen negativ aus. Erfolgreich waren dagegen ihre Kulturversuche. Sie fanden in der Blut-Serumwasserkultur eines Schwerkranken nach 10tägiger Bebrütung „Spirochäten vom Typus der Weil-Spirochäten“. Die Fortzüchtung des Stammes gelang aber ebenso wenig, wie sie ein Haften der Kultur-Spirochäten bei den erwähnten Versuchstieren erreichen konnten. Immerhin glaubten Prausnitz und Lubinski aus ihrem Befunde den Schluß ziehen zu können: „Wenn auch unsere Ergebnisse keinen sicheren Anhalt für die Aetiologie dieser interessanten Krankheit geliefert haben, so ist es doch in hohem Maße wahrscheinlich, daß hier eine echte Spirochäten-Infektion vorliegt.“

Rimpau (9) hatte mit seinen Bemühungen, den Erreger nachzuweisen, keinen Erfolg. Wir selbst haben 1926 und 1927 Untersuchungen nach dieser Richtung durchgeführt. Bei den beiden Schlammfieberkranken Kolatta und Weigelt (s. Kurven auf S. 287, 288, 294) entnahm ich Blut am 3. Krankheitstage, spritzte es unmittelbar darauf Meerschweinchen in die Bauchhöhle. Die Tiere wurden wochenlang genau beobachtet und täglich mehrmals gemessen. Sie zeigten keine nennenswerten Reaktionen. Als ein Meerschweinchen 10 Tage nach der Injektion leichte Unregelmäßigkeiten der Temperaturkurve aufwies, entnahm ich ihm durch Herzpunktion Blut und spritzte es einem Meerschweinchen intraperitoneal ein. Auch dieses Tier zeigte trotz lange fortgesetzter Beobachtung keine Erscheinungen einer stattgefundenen Infektion. Daß diese Methode nicht ausreicht, habe ich inzwischen aus der bedeutungsvollen Arbeit von Baermann und Zülzer (18) über Spirochätenstudien in Sumatra ersehen, auf die ich nachher noch eingehend zurückkomme.

Aus dem Blute von Kolatta und dem von Weigelt züchtete ich den *Staphylococcus aureus haemolyticus*, aus dem Peritonealexsudat von Baron (s. oben) den *Streptococcus haemolyticus*, aus dem Bauchhöhlen-

eiter von Reimann eine sehr mannigfache Bakterienflora einschließlich Proteusbazillen (Darmperforation). Späteren Erörterungen vorgreifend, darf ich schon hier einfügen, daß der Japaner Kaneko (12) auf Grund seines großen Weilmaterials die Angabe macht: „eine relativ häufige Komplikation bei der Weilschen Krankheit besteht in der sekundären Infektion mit Eitercoccen oder anderen Mikroben“.

Die bakteriologische, kulturelle und mikroskopische (Silberimprägnation nach Levaditi) Untersuchung der Leichenorgane des Falles Reimann ergab keine eindeutigen Befunde. Zwar fand ich in den Rändern und dem Grunde der Darmgeschwüre spirochätenähnliche Gebilde mit ganz flachen Windungen, deren Bedeutung mir zunächst zweifelhaft erschien. Auf Grund meiner weiteren Untersuchungsergebnisse glaube ich aber annehmen zu dürfen, daß es sich um Mischinfektionserreger gehandelt hat.

In nach Giemsa gefärbten Blutaussstrichen und dicken Tropfen Schlammfieberkranker, entnommen im Fieberstadium, fanden wir nichts Verdächtiges. Allerdings sah Brill (Münch. med. Wochenschr. 1927. No. 36), damals Assistent an unserem Institut, in einem solchen Blutaussstrichpräparat Gebilde, die man für Spirochäten halten könnte. Wenn man aber berücksichtigt, wie leicht es in Blutaussstrichen zur Bildung von „Pseudospirochäten“ durch Eiweißgerinnungen kommt, dann muß man schon zugeben, nur der Nachweis der lebenden, beweglichen Spirochäte ist entscheidend. Das betr. Präparat hat übrigens verschiedenen Spirochätenkennern vorgelegen. Die einen glaubten an die Spirochätennatur des Gebildes, die anderen lehnten sie ab.

Der Nachweis von Spirochäten in Blutaussstrichen und dicken Tropfen von Schlammfieberkranken ist sonst weder uns noch anderen Untersuchern gelungen.

Der Fall Baron gab mir nun Gelegenheit, wichtigste Feststellungen über die Aetiologie des Schlammfiebers zu machen. In den am 4. Krankheitstage noch während des hohen Fiebers am Krankenbett angelegten Blutkulturen in Kaninchen-Serumwasser, die ich aërob gehalten, fand ich nach 14tägiger Bebrütung bei Dunkelfeld-Untersuchung des Bodensatzes des Röhrchens folgendes: Zwischen den Erythrozytenschatten schwimmen sehr kleine, überaus lebhaft bewegliche Gebilde, deren Spirochätennatur unverkennbar ist. Die Primärwindungen sind eng, ziemlich niedrig und starr. Das Mittelstück der 1—2 Blutkörperchendurchmesser langen Spirochäten ist, falls der Mikroorganismus noch lebensfrisch, ziemlich gestreckt; dagegen sind die beiden sich verzüngenden Enden in einer sehr lebhaften schlagenden Bewegung, so daß sie an die Geißeln der Trypanosomen erinnern. Querteilungen konnte ich verschiedentlich beobachten. Bei den Spirochäten, die nur schwach oder gar nicht beweglich, also wohl in ihrer Lebensfähigkeit abgeschwächt oder abgestorben sind, verdicken sich die Enden und treten als stark lichtbrechende, knopfartige Anhänge in Erscheinung. Die Spirochäten sind nicht mit den gewöhnlichen Anilinfarbstoffen, sondern nur nach Giemsa färbbar (Fig. 9—11).

Das Bild der aus dem Blute von Baron gezüchteten Spirochäten gleicht nun weitgehend dem der *Spirochaete ikterogenes*. Herr Geheimrat Uhlenhuth, dem ich meine Präparate sandte, war so freundlich, sie zu prüfen. Er schrieb mir: „Die Spirochaeten sehen in der Tat der *Spirochaete icterogenes* außerordentlich ähnlich“.

Die Spirochäten gingen leider trotz aller Bemühungen nach weiterer Ueberimpfung nicht mehr an. Dagegen ergab die mikroskopische Untersuchung der nach Levaditi mit Silber imprägnierten Gewebstücke der Organe des Baron, und zwar der Nieren, weitere wichtige Befunde, die die Kette der

Beweise, daß es sich um eine Spirochäteninfektion gehandelt, zu schließen erlauben. Im Lumen der geraden Harnkanälchen, und zwar vor allem in den schollig-krümeligen Massen der Zylinder finden sich stellenweise spärliche, dann aber wieder in dichten Haufen gelagerte feinste schraubenförmige Gebilde, deren Spirochätennatur unverkennbar ist (Fig. 12 und 13). Man gewinnt den Eindruck, daß die Spirochäten in den Kanälchen bzw. in den Zylindern gewuchert sind, nachdem sie entweder aus dem Blute durch die Schlingen hindurchgetreten oder aus dem Interstitium in die Kanälchen eingewandert waren.

In den übrigen Organen waren keine Spirochäten nachzuweisen.

Das Wesen des Schlammfiebers.

Lassen nun die vorliegenden Tatsachen, das Symptomenbild des Schlammfiebers, seine Epidemiologie sowie die pathologisch-anatomischen Befunde und der einige Male geglückte Nachweis der Spirochäten, es zu, diese Krankheitsform zu anderen infektiösen Erkrankungen in Beziehung zu setzen, sie von ihnen abzugrenzen oder auch vielleicht mit ihnen zu identifizieren?

In aller Kürze möchte ich zunächst zusammenfassend folgendes bemerken: Das Symptomenbild zeigt gewisse Uebereinstimmungen mit den zwei klinisch kaum von einander zu trennenden Infektionskrankheiten, dem Dengue- und dem Pappataccifieber, die beide durch Insekten (*Culex fatigans* bzw. *Phlebotomus*) übertragen werden und deren Erreger noch nicht bekannt sind. Schon Fr. Müller (3) hat 1894 darauf hingewiesen, daß die Ähnlichkeit des Schlamm- und des Denguefiebers außerordentlich groß ist. Jene beiden Infektionskrankheiten, das Dengue- und das Pappataccifieber, sind aber in südlichen Ländern heimisch und über den Balkan hinaus nach Norden meines Wissens noch nicht vorgedrungen.

Die wesentlichsten Vergleichspunkte bestehen aber zwischen dem sogenannten Schlammfieber und einer Gruppe von Infektionskrankheiten, die, abgesehen von anderen, vor allem klinischen und epidemiologischen Parallelen, auch noch das Gemeinsame haben, daß ihre Erreger zu den Spirochäten gehören: die Weilsche Krankheit [Spirochäte ikerogenes, Uhlenhuth und Fromme 1915 (13)] bzw. die epidemische Gelbsucht der Japaner [*Leptospira icterohämorrhagica*, Inada, Ido, Kaneko 1915 (15)] und ihr sogenanntes Herbst- oder 7 Tage-Fieber [*Leptospira hebdomadis*, Ido und Wani, 1916 (16)].

Auf Grund einer eingehenden Analyse des Gesamtbildes des sogenannten Schlammfiebers und der Erkrankungen der Weil-Gruppe kam ich bereits 1926 zu der in meinem ersten amtlichen Bericht vertretenen Auffassung: „Es sind zweifellos sehr weitgehende Analogien zwischen dem Schlammfieber und der Weilschen Krankheit vorhanden.“ Diese Auffassung hat sich inzwischen durch meine weiteren Befunde und die neueste Literatur auf diesem Gebiete, besonders die hochinteressanten Veröffentlichungen von Baermann, Zuelzer und Smits (17) (18) (19) aus Sumatra über die Weilsche Krankheit und ihre Erreger zu der Ueberzeugung gefestigt, daß Schlammfieber und Morbus Weil bzw. dessen abortive Form, das sogenannte kurzfristige Spirochätenfieber, identisch sind, daß sie die gleichen Erreger haben.

Ich will dabei schon hier bemerken, daß Fr. Müller (3) bereits 1894 ähnliche Gedankengänge verfolgt hat, ohne über ein „es ist nicht ausgeschlossen“ hinauszukommen, begreiflicherweise, da ja damals die ätiologische Frage noch nicht gelöst war.

Das Krankheitsbild der nach ihm benannten Krankheit wurde von Adolf Weil (21) 1886 in einer Arbeit „über eine eigentümliche, mit Milztumor, Ikterus und Nephritis einhergehende akute Infektionskrankheit“ gezeichnet. Zu ihren Merkmalen rechnete er: plötzlichen Krankheitsbeginn, schnell bis auf 41° ansteigendes Fieber, schwere nervöse Erscheinungen, Schwellung der Milz wie der Leber mit Gelbsucht, Nierenentzündung, und schließlich trotz der anfänglichen Schwere des Krankheitsbildes im allgemeinen einen schnellen, günstigen Verlauf.

Fiedler (22) fügte noch folgende Merkmale hinzu: Die Krankheit tritt hauptsächlich in der heißen Jahreszeit auf; heftige Muskelschmerzen, besonders in den Waden; in etwa $\frac{3}{5}$ der Fälle erneuter Temperaturanstieg nach der ersten Entfieberung; Herpes, Erytheme bzw. Exantheme; sehr selten Katarrhe der Atmungsorgane; subkutane und submuköse Ecchymosen.

So erscheint uns denn heute nach einer 40jährigen Erfahrung am Krankenbett das Symptomenbild des Morbus Weil in mannigfacher Hinsicht anders. Wir können den Begriff der Affektion nicht mehr so eng fassen, wie Weil und seine Zeit begreiflicherweise es noch getan.

Uebrigens hat diese Entwicklung bereits Fr. Müller (3) 1894 bei der Erörterung der schlesischen Schlammfieberepidemie angedeutet.

Wir wissen heute, daß Kardinalsymptome fehlen können, sogar recht häufig fehlen, wie bei so mancher anderen Infektionskrankheit auch! Besonders wertvolles Material nach dieser Richtung bringt die umfangreiche Arbeit von Hecker und Otto, 1911 (23). Sie hatten selbst eine Epidemie unter der Garnison Hildesheim beobachtet und konnten sieben weitere in Truppenkörpern verwerten, über die sie sehr zuverlässiges amtliches Material erhielten. Ihre Feststellungen führten sie zu dem Schlusse: „Die Ausbildung des ganzen Symptomenkomplexes ist beim Morbus Weil keineswegs immer vorhanden und für die sichere Diagnosenstellung auch keineswegs erforderlich. Diese Tatsachen möchten wir ausdrücklich hervorheben. Es kommt anscheinend zur Ausbildung des schweren Krankheitsbildes mit allen von Weil geschilderten Symptomen nur unter besonderen Bedingungen.“

Ich gebe eine gekürzte Uebersicht aus der Arbeit von Hecker und Otto wieder, die tatsächlich zeigt, daß wir es wie beim Schlammfieber so auch beim Morbus Weil „mit einer Krankheit von außerordentlich variablen Charakter zu tun haben“.

Epidemie	Zahl der Erkr.	Es hatten auf 100 Erkrankte							
		Gelbsucht	Schwellung der		E+	Petechien	Exantheme	Drüenschwellung	Recidive
			Leber	Milz					
Hagenau 1897	10	80	20	30	50	—	—	—	20
Hildesheim 1897	26	54	15	12	42	15	—	—	—
Neiße 1899	38	45	76	97	89	—	47	97	7
Braunschweig 1899	23	4	—	—	48	—	35	—	—
Neiße 1900	16	81	—	88	44	—	6	69	—
Braunschweig 1900	10	30	70	70	50	—	—	10	—
Bromberg 1908	16	75	19	6	75	6	13	6	13
Hildesheim 1910	20	30	50	35	95	5	35	—	45

Ganz besonders möchte ich die Tatsache unterstreichen, daß auch das Kardinalsymptom „Ikterus“ gar nicht selten fehlte.

Diese Feststellungen über das so wechselnde Krankheitsbild des Morbus Weil wurden immer wieder bestätigt und ganz besonders gestützt durch Beobachtungen nach Entdeckung des Erregers, also nachdem die Diagnose auf eine viel zuverlässigere Grundlage gestellt war. Reiter (24) erwähnt, daß der Ikterus in 30—100 Proz., Recidive in 70—75 Proz. der Fälle auftreten; Urticaria und masern- oder scharlachähnliche Exantheme sah er „selten“; Hautpetechien in 90 Proz. der Fälle.

Ganz entsprechende Mitteilungen enthalten die Arbeiten der japanischen Forscher. Kaneko (12) z. B. erwähnt ausdrücklich, daß es bei ihnen eine Form der Weilschen Krankheit gibt, die ohne Ikterus verläuft.

Auf Grund der Veröffentlichungen von Baermann und Zuelzer (18) dürfen wir annehmen, daß es sich auch bei dem japanischen Siebentagefieber um eine Form der Weilschen Krankheit handelt, denn sein Erreger, die *Spirochaete hebdomadis*, die mit der *Ikterogenes* morphologisch, in der Kultur und im Tierversuch, wie man schon wußte, identisch ist, gehört nach den in Sumatra letzthin durchgeführten serologischen und immunbiologischen Untersuchungen der genannten Forscher „in den einheitlichen Kreis der Weil- und Wasser-Spirochäten vom *biflexa* (*ikterogenes*)-Typus“ (s. später). Das Siebentagefieber beginnt plötzlich mit Fieber, großer Mattigkeit, Muskelschmerzen. Es treten Verdauungsstörungen, Lymphdrüenschwellungen, Albuminurie, als Nachkrankheit Glaskörpertrübungen auf. Gelbsucht wird, ich lege auf diese Feststellung wieder besonderen Wert, nicht oder nur ganz selten beobachtet. Die Klinik der *Hebdomadis* stimmt, wie Baermann und Zuelzer (18) ausdrücklich betonen, mit der des kurzfristigen Weil-Fiebers sehr gut überein.

Zusammenfassend läßt sich demnach sagen, daß das Krankheitsbild des Morbus Weil alle Uebergänge von den leichtesten zu den schwersten Fällen zeigt, daß bei ihm Kardinalsymptome wie Gelbsucht und Nierenentzündung fehlen können und daß somit schließlich — darauf kommt es mir hauptsächlich an — eine Schlammfiebererkrankung von einer Weil-Erkrankung nicht grundsätzlich verschieden ist, im Gegenteil, die Symptomenbilder sich vollkommen decken können.

Auch die bisher bekannt gewordenen allgemeinen epidemiologischen Tatsachen sprechen nur für, jedenfalls in keiner Weise gegen die Identität der beiden Krankheiten. Ueber den Morbus Weil haben das wertvollste und zuverlässigste Material nach dieser Richtung die Seuchenausbrüche unter Heeresangehörigen geliefert. Die schon mehrfach erwähnte grundlegende Arbeit von Hecker und Otto (23) verdient auch von diesem Gesichtspunkt aus ganz besondere Beachtung. Aus den von ihnen zusammengefaßten Beobachtungen geht eindeutig hervor, welche entscheidende Bedeutung das Wasser bzw. versumpfter Boden für den Ausbruch von Epidemien und für das Auftreten von Einzelkrankungen hat, die sich ebenfalls meist in der wärmeren Jahreszeit ereignen. Es erkrankten von Regimentern nur die badenden Kompagnien; und die Epidemie erlosch, sobald das Baden eingestellt wurde. Nach Uhlenhuth (25) konnte auch im Felde mit großer Regelmäßigkeit festgestellt werden, daß die Krankheit an der Örtlichkeit haftet, die durch Wasser, Sumpfreichtum und feuchtes Erdreich ausgezeichnet war. In Japan sind es die feuchtwarmen Kohlengruben, die als Infektionsquellen angeschuldigt werden. Den experimentellen Nachweis dafür erbrachte Buchanan [zit. nach Baermann und Zuelzer (18)], der mit dem feuchten, spirochätenreichen Schlamm von den Wänden solcher Kohlenminen, in denen Weil epidemisch auftrat, durch intraperitoneale Injektion beim Meerschweinchen echten Tier-Weil erzeugte.

Die stärkste Stütze nach der klinischen wie nach der epidemiologischen Seite erhält aber meine Auffassung von der Identität des Schlammfiebers

und des Morbus Weil durch die schon mehrfach erwähnten Arbeiten von Baermann, Zuelzer und Smits aus dem Centralhospital Potoemboekam auf Sumatra „über die Aetiologie der Weilschen Krankheit“, über „die Einheitlichkeit aller tier- und menschenpathogenen Spirochäten vom Typus der *Spirochaeta icterogenes* syn. *icterohaemorrhagica* und der mit ihr verwandten Wasserspirochäte vom gleichen Typus“, über „Diagnose, Klinik, Epidemiologie und Therapie der kurzfristigen Weilschen Erkrankung“, sowie über die „Hydrobiologie der *Spirochaeta icterogenes* syn. *biflexa* in den Tropen“.

Diesen Arbeiten gingen aber noch eine Reihe von interessanten Veröffentlichungen zur Spirochätenfrage voraus, von denen ich nur die wichtigsten erwähnen will. Nach der Entdeckung der Spirochäte *icterogenes* (Uhlenhuth und Fromme) bzw. der Spirochäte *icterohaemorrhagica* (Ido und Wani) waren die Bemühungen darauf gerichtet, diese Spirochäten in der Umwelt des Menschen nachzuweisen.

Uhlenhuth (13) und Fromme (14) konnten noch im Felde aus einem Unterstand der vorderen Linie, in dem ein Mann an Weil erkrankt war, sowie bei einer Sielratte in Straßburg echte *Icterogenes* nachweisen.

Uhlenhuth und Zuelzer (26) fanden sie bei 10 Proz. der freilebenden Berliner Ratten. Die Japaner stellten in der Stadt und den Kohlengruben von Kyuschu, deren Arbeiter häufig an infektiöser Gelbsucht erkrankten, 39,5 Proz. der dort gefangenen gesunden Ratten als Träger virulenter Weilspirochäten fest, die mit dem Harn ausgeschieden werden.

Der Gedanke an eine Infektion des Menschen durch den Harn der Ratte lag somit nahe. Für sporadische Weilsfälle mag tatsächlich ein derartiger Zusammenhang gegeben sein. Ist es doch auch bekannt, daß einerseits Fleischer relativ oft an Weil erkranken und andererseits in Fleischereien Ratten sehr häufig ungebetene Gäste sind. Aber die Badeepidemien (Hecker und Otto) lassen sich nur sehr gezwungen durch die „Rattentheorie“ erklären.

Es gelang dann aber Uhlenhuth und Zuelzer (25) weiterhin, aus den verschiedensten Gewässern in der Umgebung von Berlin, aus Kläranlagen usw. Spirochäten zu züchten, die morphologisch und kulturell mit der *Icterogenes* übereinstimmten, nur die Meerschweinchenpathogenität vermissen ließen. Sie bezeichneten sie infolgedessen als „*Spir. pseudoicterogenes*“ und nahmen bei den bekannten engen Beziehungen zwischen Ratten und Wasser einerseits und Wasser und Weilscher Krankheit andererseits an, daß die *Pseudo-icterogenes* sich allmählich dem Rattenkörper anpaßt und „daß der Rattenorganismus die Stätte ist, wo der Uebergang der Spirochäte vom Saprophytismus zum Parasitismus sich ausbildet“. Mit dem Rattenurin gelangen die virulent gewordenen Spirochäten unmittelbar oder durch Vermittlung des Wassers auf den Menschen, per os oder perkutan.

Uhlenhuth und Zuelzer fanden im weiteren Verlaufe ihrer Untersuchungen auch die echte *Icterogenes* im Wasser. M. Zuelzer gelang es ferner schon 1922, die sogenannte *Pseudoicterogenes* für Meerschweinchen pathogen zu machen; später hatte auch Herrmann (27) mit derartigen Umwandlungsversuchen Erfolg.

Die in Sumatra von Baermann, Zuelzer und Smits (17) (18) (19) im großen Maßstab durchgeführten Untersuchungen ergaben zunächst einmal eine Bestätigung der Auffassung von dem mehr oder weniger ubiquitären Vorkommen dieser Spirochäten, und zwar in reinen Flüssen, in den verschlammten und stark organisch verunreinigten Tümpeln, Abzugsgräben usw. Sie zeigten fernerhin, daß sich bei geeigneter Versuchsanordnung scheinbar alle diese Wasserspirochäten vom sogenannten *Pseudoicterogenes*-Typ, die in den

Tropen wie die in Europa isolierten, in echte Weilsprochäten überführen lassen. Gelingt es doch sogar, mit einem solchen umgewandelten Stamme beim Menschen einen echten Weil künstlich zu erzeugen. Somit dürfte keine Berechtigung mehr bestehen, zwischen Icterogenes und Pseudoicterogenes, zwischen „prinzipiell pathogenen und prinzipiell saprophytischen“ Wassersprochäten zu unterscheiden. Baermann und Zuelzer sind vielmehr der Ansicht, daß sie „alle bei gegebenen günstigen Umständen infektiös-tüchtig sind und die Fähigkeit besitzen, Weil-Erkrankungen aller Grade zu verursachen, daß sie damit identisch mit den aus Mensch und Tier gezüchteten Icterogenes-Stämmen sind“. Somit hat auch die Bezeichnung „Pseudo-icterogenes“ keine Berechtigung mehr, zumal diese „Wasserstämme, die, ehe sie den menschlichen oder tierischen Organismus passiert haben, weder von künstlichen noch von Patientensera agglutiniert werden, diese Eigenschaften nach 1—2 Passagen erwerben und damit sofort zu anderen Stämmen bzw. deren Sera — künstlichen und Patienten-Sera — in Beziehung treten“.

Bedeutungsvoll für die Klärung der Beziehungen zwischen Morbus Weil und Schlammfieber erscheint es mir nun, daß die Untersuchungen von Baermann und Smits (19) in Bestätigung früherer Berichte über das „kurzfristige Spirochätenfieber Sumatras“ an einem großen Material den Nachweis erbrachten: alle diese Spirochätenerkrankungen von der fast ephemeren Affektion bis zu den schwersten Weil-Erkrankungen sind eine Einheit. Die sogenannten kurzfristigen Spirochätenfieber sind nichts anderes, als graduell verschiedene, leichte Weil-Fälle; „sie bilden auf der langen Stufenleiter dieser Erkrankung die untersten Sprossen“. Der Erreger dieser Erkrankungen in allen ihren Abstufungen ist ein und dieselbe Spirochäte icterogenes oder „biflexa“, wie sie nach Baermann und Zuelzer (7) jetzt zu bezeichnen ist, da der Ikterus keineswegs zu den regelmäßigen Symptomen gehört.

Baermann und Smits (19) entwerfen in ihrer Arbeit ein anschauliches Bild der Erscheinungen des kurzfristigen Spirochätenfiebers, dieses abortiven Weil. Ich muß es mir, um nicht zu ausführlich zu werden, versagen, es hier wiederzugeben; ich verweise auf ihre Abhandlung. Zusammenfassend darf ich nur feststellen: das Bild entspricht Zug um Zug dem unseres sogenannten Schlammfiebers. Und treffend bemerken die beiden Forscher: „Ueberblickt man die klinischen Symptome, so findet sich eigentlich keines, das nicht auch dem klassischen Weil eigen ist. So wie die bisher bekannte echte Weilsche Erkrankung äußersten Schwankungen unterworfen sein kann, so sind dies auch die leichten kurzfristigen Spirochätenfieber.“ Im wesentlichen dasselbe sagte Fr. Müller vor 25 Jahren über das Schlammfieber, diese Krankheit von so „außerordentlich variabeln Charakter“. Und das gleiche konnte ich auch für die Epidemie von 1926/27 feststellen.

Was endlich die Prognose anbetrifft, so fassen Baermann und Smits ihre Beobachtungen dahin zusammen: „Die Prognose der kurzfristigen Fieber ist gut, doch können zwischen die harmlosen Fälle plötzlich schwere und schwerste eingestreut sein.“

In unserer schlesischen Schlammfieberepidemie von 1926/27 waren es die Fälle Reimann und Baron.

Ergaben sich somit keine Widersprüche bei dem Versuche, das Schlammfieber klinisch und epidemiologisch als abortiven Morbus Weil, als kurzfristiges Spirochätenfieber zu deuten, so bleibt nur noch übrig, die von mir erhobenen Sektionsbefunde daraufhin zu prüfen, ob sie sich in das Bild der pathologischen Anatomie der Weilschen Krankheit einordnen lassen.

Unsere Kenntnis der Organveränderungen beim Morbus Weil beruht fast ausschließlich einmal auf den Beobachtungen Herxheimers (28), Beitzkes (29) Millers (30) und einiger anderer Pathologen während des Krieges, die 1919 in einem Sammelreferat von Lubarsch (35) und 1921 von Beitzke (29) in dem „Handbuch der ärztlichen Erfahrungen im Weltkriege 1914/18“ zusammengefaßt sind; und ferner auf der bereits mehrfach erwähnten Monographie Kanekos (12) über seine Befunde bei japanischen Weil-Fällen.

Von dem Bilde der pathologischen Anatomie des Weil, das sich aus diesen Darstellungen ergibt, läßt sich in gewissem Sinne das gleiche sagen, was wir als kennzeichnend für den klinischen Symptomenkomplex hervorgehoben: es ist variabel, wenn auch begreiflicherweise nicht in dem Maße, wie letzterer, da es sich ja um schwerste, tödlich verlaufene Fälle handelt. Der Sektions- und histologische Befund bei Baron (Seite 295) gleicht nun im wesentlichen dem Bilde, das wir zusammenfassend als charakteristisch für Morbus Weil bezeichnen können. Von deutschen Autoren hat allerdings nur Reinhardt (31) bei einem im Herzkollaps verstorbenen Soldaten herdförmige Degenerationen der Herzmuskulatur gefunden, wie sie bei Baron so ausgeprägt waren. Kaneko (12) aber bringt histologische Bilder, die meiner Figur 8 vollkommen gleichen. Peritonitis als Todesursache habe ich in unserer Literatur nicht erwähnt gefunden; Kaneko dagegen weist ausdrücklich auf sie hin.

Eine Erörterung des Einwandes, der mir gemacht wurde, der Fall Baron ist ein echter Weil und trat nur zufällig innerhalb der Schlammfieberepidemie auf, erledigt sich nach meinen bisherigen Ausführungen über die Identität von Weil und Schlammfieber von selbst. Ich möchte aber nicht unterlassen, nochmals auf folgende wichtige Tatsachen hinzuweisen: Praußnitz und Lubinski (11) züchteten „Spirochäten vom Weil-Typus“ aus dem Blute eines Schlammfieberkranken, der keinen Ikterus hatte, der nicht zum Exitus kam, der sich also in nichts von Tausenden anderen derartigen Kranken unterschied. Ich züchtete Spirochäten desselben Typs aus dem Blute eines Patienten, wies sie ferner in seiner Niere nach, dessen an sich für Schlammfieber charakteristisches Krankheitsbild nur dadurch kompliziert wurde, daß er einen Ikterus bekam und einer interkurrenten Streptokokkeninfektion erlag.

Die Wertung des Falles Reimann (Seite 18), der an einer Peritonitis, verursacht durch ein perforiertes Darmgeschwür, zu Grunde ging, ist insofern schwieriger, als er in vivo nicht bakteriologisch untersucht ist, und der Nachweis von Spirochäten vom Icterogenes-Typus mit Hilfe der Levaditi-Methode in der Leiche mißlang. Dies Bemühen bleibt aber, wie aus der einschlägigen Literatur hervorgeht, auch bei sicheren, tödlich verlaufenden Weillfällen oft fruchtlos. Das Eigenartige dieses Leichenbefundes waren die Darmgeschwüre. Auch sie haben aber in der Weil-Literatur ihr Gegenstück. Beitzke (29) erwähnt einen Fall, bei dem er im Darm Schleimhautnekrosen fand, die sich als schmutzigröte bis braunrote, festsitzende Schorfe zu erkennen gaben. Kaneko (12) berichtet über starke Rötung der Payerschen Haufen, Blutungen in ihr Gewebe, die bis zur Verschorfung, zur Geschwürs- und Abszeßbildung führen können. Ausdrücklich hebt er dann noch hervor, daß der Follikularapparat der Darmschleimhaut, und zwar am stärksten im unteren Ileum, etwa in der Hälfte seiner Fälle geschwollen war. Die Payerschen Haufen fand er einmal geschwollen wie bei Abdominaltyphus. Der klinische Verlauf des Falles Reimann war übrigens typisch für Schlammfieber und sprach durchaus gegen Typhus. Es erscheint mir auch kaum notwendig zu sein, die Frage zu prüfen, ob nicht eine Mischinfektion von Typhus und Schlammfieber vorlag. Ich habe

am Sektionstisch die bakteriologische Untersuchung der Leichenorgane einschließlich der Gallenblase auch auf Typhusbazillen eingeleitet. Sie fiel negativ aus. Ferner habe ich Ermittlungen über etwaige andere Typhusfälle in dem Heimatsort des Reimann angestellt. Weder in den Jahren vor 1926 noch auch im Jahre 1926 selbst sind Typhusfälle dort beobachtet worden. Reimann hatte sein Dorf längere Zeit vor seiner Erkrankung nicht verlassen. Sind derartige Feststellungen natürlich auch nicht beweisend, so sind sie doch mit in dem Sinne zu bewerten, daß R. keinem Typhus erlag, sondern daß es sich bei ihm offenbar um durch das Schlammfieber, d. h. einen abortiven Weil, bedingte Darmgeschwüre handelte. Die übrigen Organveränderungen waren nicht allzu schwer, so daß man wohl sagen kann, R. ging interkurrent an einer Peritonitis ein, die von ausnahmsweise tiefgreifenden Darmgeschwüren ihren Ausgang nahm.

Daß bei Weil wie beim sogenannten Schlammfieber Darmblutungen bzw. blutige Beimengungen im Stuhl beobachtet sind, hatte ich schon erwähnt. Offenbar sind sie durch derartige ulceröse Prozesse der Darmschleimhaut bedingt.

Schließlich will ich in diesem Zusammenhange nicht unerwähnt lassen, daß Hoffmann (32) bei künstlichen Meerschweincheninfektionen mit der Spirochäte *icterogenes*, wenn die Tiere in den ersten 4—7 Tagen zu Grunde gingen, fast regelmäßig markige Schwellungen des lymphatischen Apparates des Darmes sah. Die histologische Untersuchung ergab eine überraschende Ähnlichkeit mit den markigen Schwellungen beim Typhus des Menschen. In den markig geschwollenen Plaques wies er die Spirochäten nach.

Haben sich somit auch in den Gedankengängen über die Identität des Schlammfiebers und der Weilschen Krankheit auf dem Gebiete der pathologischen Anatomie keine Widersprüche ergeben, so bleibt schließlich noch eine eingehende Erörterung der Frage übrig: wie kommt es zur Entwicklung solcher Schlammfiebermassenerkrankungen, wie letzten Endes — falls meine Auffassung von ihrem Wesen zutreffend ist — zu dieser dann zweifellos doch ungeheueren Verbreitung der Spirochäte *icterogenes* s. *biflexa* in dem Ueberschwemmungswasser bzw. in dem verschlammten Erdboden?

Es kann, wie ich das schon ausgeführt habe, keinem Zweifel unterliegen, daß die gewaltigen Epidemien, wie wir sie 1891 und 1926/27 erlebten, zunächst örtlich und zeitlich gebunden sind an Ueberschwemmungen, zum mindesten an starke Durchnässungen oder Verschlammungen des Bodens in der warmen Jahreszeit. Ferner müssen die Menschen, die in so großer Zahl erkranken, durch ihr Bemühen, Feldfrüchte aus dem Wasser zu retten, durch Baden in überschwemmtem Gebiet usw. mit dem spirochätenhaltigen Wasser bzw. Boden in langdauerndem Kontakt gewesen sein. Gerade die Notwendigkeit des Zusammentreffens der Ueberschwemmungen, der warmen Lufttemperatur und dieser ja sehr unregelmäßig auch über die wärmere Jahreszeit sich verteilenden landwirtschaftlichen Tätigkeit scheint mir einer der Gründe zu sein, die es verständlich machen, daß zum Beispiel hier in Schlesien trotz häufiger Ueberschwemmungen doch nur selten solche Schlammfieberepidemien auftreten.

Ich habe nun versucht, zur weiteren Klärung dieser Fragen Material herbeizutragen, das ich in der nachstehenden Uebersicht zusammenfasse. Für die Halbjahre April bis September der Jahre 1890 bis 1927 gebe ich die Temperaturmittel und die Niederschlagsmengen wieder¹⁾. Ferner vermittelt die Tabelle

1) Ich verdanke die Zahlen Herrn Dr. Stumpf von der hiesigen Universitätssternwarte.

die Kenntnis der in diesem Zeitabschnitt während der Sommerhalbjahre eingetretenen Ueberschwemmungen im Stromgebiet der Oder. Diese Angaben verdanke ich dem liebenswürdigen Entgegenkommen des Herrn Regierungs- und Baurats Bartels, des Leiters des hydrographischen Büros der Oderstrombauverwaltung.

Nach den Auskünften, die ich von ihm erhielt, ist Schlesien wie kein anderes Gebiet Deutschlands durch Ueberschwemmungen gefährdet und schon oft heimgesucht worden. Schlesien, vor dem Nordostabhang der Sudeten gelegen, wird von der dem Gebirgszuge fast parallel laufenden Oder durchströmt. Ihre hauptsächlichsten linken Nebenflüsse in diesem Gebiet, die Glatzer Neiße, die Ohle, die Loh, die Weistritz, die Katzbach, der Bober, der Queiß, die Görlitzer Neiße führen in kurzem Laufe der Oder die Niederschläge zu, die auf der Nordseite des Gebirges fallen. Die schmalen Flußläufe können die plötzlich herandrängenden gewaltigen Wassermassen nicht fassen, es kommt zur Ausuferung. Die gleichen Verhältnisse liegen für die Oder selbst vor. Große Talsperren und Stauweiher sind schon seit langem zur Bekämpfung der Wassernöte geplant, aber erst in geringer Zahl gebaut.

In der Uebersicht habe ich die Wasserstände am Oder-Pegel bei Treschen, 10 km oberhalb von Breslau, wiedergegeben, der hydrographisch wohl als maßgebend für die schlesische Tiefebene angesehen werden kann. Sobald die Hochwasserwelle dort den Pegelstand 3,40 m überschreitet, beginnt der Strom auszufern. Trotz des dann früher oder später wieder einsetzenden Rückganges des Wasserstandes der Oder bleiben naturgemäß die Ueberschwemmungen noch kürzere oder längere Zeit bestehen.

Hin und wieder kommt es zu Ueberschwemmungen, ohne daß Ausuferungen vorhergegangen sind (z. B. im Juli-August 1927). Treten starke Niederschläge nicht plötzlich ein, sondern verteilen sie sich über eine längere Zeitspanne, so können die Flußbetten die Wassermassen restlos aufnehmen; aber die in den Niederungen selbst gefallen Niederschläge können nicht schnell genug in den Boden eindringen; sie verschlammen ihn und setzen ihn schließlich unter Wasser. Drittens können Ueberschwemmungen auch durch Rückstau eintreten, wenn nämlich das im Untergrunde dem Flusse zuströmende Wasser auf ein gefülltes Flußbett trifft.

So viel nur zum besseren Verständnis der Uebersicht (S. 306 u. 307).

Während der aufgeführten 38 Jahre kam es in den Sommerhalbjahren 31mal zur Ausuferung der Oder in dem bezeichneten Gebiet. 12 Ausuferungen fielen in die Monate April und Mai, 4 in den September. Im April und Mai setzte keine der 3 großen Schlammfieberepidemien ein. Die Monatsmittel der Lufttemperatur überstiegen in diesen Jahren im April niemals 9° C, meist blieben sie erheblich darunter. Im Mai kamen sie meist nicht über 15° C; in den Maimonaten mit Ausuferungen der Oder betrugen sie 11,4, 12,7, 11,5, 14,1, 13,3° C, Wärmegrade, die offenbar zur Massenentwicklung von Spirochäten vom Icterogenes-Typ noch nicht ausreichen. Außerdem pflegen in diesen Monaten noch nicht das Heu auf den Wiesen oder sonstige Feldfrüchte geerntet zu werden.

In diesen 38 Jahren brachte der Juni 4, der Juli 6, der August 5 Ausuferungen. Die Schlammfieberepidemie von 1891 setzte hauptsächlich im Juli ein, der eine Niederschlagshöhe von 121 mm, ein Temperaturmittel von 18,2° C hatte, und in dem die Ausuferungshöhe von 3,40 m am Pegel Treschen 7 Tage lang überschritten wurde. Im Jahre 1926 traten die ersten gehäuften Fälle im Juni auf. Im Juli war der Höhepunkt der Seuchenwelle. Die Niederschlagsmenge erreichte im Juni die außerordentliche Höhe von 205,8 mm, im Juli immerhin noch 107,2 mm. Im Juni uferete die Oder bei einem Pegelhöchststand von 3,70 m am 19. VI. nicht weniger als 8 Tage aus. Das Temperaturmittel betrug im Juli 19° C; im Juni zwar nur 15,4° C; in der 5. Pentade des Juni aber, in der die Epidemie begann, 16,9° C.

1927, im 3. Schlammfieberjahre dieser Zeitspanne, erreichen die Niederschläge im Juni die Höhe von 162,1, im Juli von 138,4 mm. Es kommt wegen der Verteilung der Regenfälle auf einen längeren Zeitraum nicht zu Ausuferungen, aber doch in der oben geschilderten Weise zu Ueberschwemmungen. Die Epidemie setzt im Juli ein, der eine mittlere Temperatur von 19° C hat.

Mittlere Lufttemperaturen und Niederschlagshöhen in Millimeter während der Monate April bis September in den Jahren 1890—1927.								Stand der Oder am Pegel bei Treschen. (Von 3,40 m an Aus- uferung.)					
Jahr	Mittel der Lufttemp. bzw. Menge der Nieder- schläge in mm	April	Mai	Juni	Juli	August	September	Wasserst. über Ausferungshöhe (3,40 m)				Pegelhöchst- stand	
								Monat	vom	bis	also Tage	m	am
1890	M. d. L.-T. Niedersch.	9,0 79,3	15,7 45,3	14,8 100,7	17,8 99,3	23,2 118,0	14,0 103,3	Sept.	7.	9.	3	3,50	7./9.
1891 ¹⁾	M. d. L.-T. Niedersch.	6,1 32,6	15,3 37,6	15,6 85,5	18,2 121,0	20,3 44,8	16,0 19,6	Juli	24.	30.	7	3,70	25./7.
1892	M. d. L.-T. Niedersch.	7,6 37,9	13,2 62,0	17,8 74,3	18,0 27,2	24,6 17,4	16,8 48,2						
1893	M. d. L.-T. Niedersch.	8,3 5,5	13,2 57,8	17,2 12,3	19,8 85,0	20,2 34,3	14,2 27,2						
1894	M. d. L.-T. Niedersch.	11,0 40,0	13,7 51,7	15,0 118,3	20,3 28,9	20,6 69,3	11,3 37,6	Juni	21.	—	1	3,42	21./6.
1895	M. d. L.-T. Niedersch.	9,0 9,1	14,2 46,5	17,0 28,6	20,8 52,7	22,0 70,4	15,8 46,2	April	1.	2.	2	3,42	1./4.
1896	M. d. L.-T. Niedersch.	6,2 18,0	11,4 118,8	19,1 63,8	19,1 135,4	20,0 52,0	13,8 112,6	Mai	7.	12.	6	3,54	10./5.
1897	M. d. L.-T. Niedersch.	8,6 30,8	12,8 91,5	17,5 23,0	18,9 178,5	22,0 63,9	13,6 69,7	Mai Aug.	19. 2.	23. 7.	5 6	3,53 3,54	20./5. 3./8.
1898	M. d. L.-T. Niedersch.	8,6 72,5	14,4 69,6	16,7 84,9	16,0 53,1	21,4 118,7	14,0 21,7						
1899	M. d. L.-T. Niedersch.	8,6 62,3	12,7 153,4	15,3 53,0	19,0 104,4	20,0 27,0	13,7 71,0	Mai Sept.	13. 16.	15. 17.	3 2	3,51 3,45	14./5. 16. 17./9.
1900	M. d. L.-T. Niedersch.	7,4 35,2	12,1 33,4	17,8 47,7	20,4 90,7	23,6 16,9	15,3 18,5	April	11.	12.	2	3,44	11./4.
1901	M. d. L.-T. Niedersch.	8,8 64,9	14,9 29,0	18,1 48,0	20,6 39,7	21,0 96,2	14,0 31,5						
1902	M. d. L.-T. Niedersch.	7,1 30,5	10,4 43,9	16,5 91,3	16,8 60,9	19,7 46,8	12,2 19,3	Juni	23.	30.	8	3,57	24./6.
1903	M. d. L.-T. Niedersch.	6,5 7,4	14,1 46,7	16,2 51,3	18,4 108,2	20,5 88,8	14,5 23,8	April Juli	25. 12.	28. 19.	4 8	3,54 4,16	26./4. 14. 15./7.
1904	M. d. L.-T. Niedersch.	9,3 43,5	12,8 29,0	17,1 20,4	20,2 24,6	21,7 37,8	13,6 14,1						
1905	M. d. L.-T. Niedersch.	6,6 44,0	13,8 87,9	19,0 54,9	20,1 82,4	21,5 53,2	14,0 52,2						
1906	M. d. L.-T. Niedersch.	10,5 12,1	15,1 115,5	16,2 43,2	19,1 22,5	21,1 68,5	12,7 101,8	Sept.	24.	25.	2	3,40	24. 25./9.
1907	M. d. L.-T. Niedersch.	6,0 42,2	15,7 43,2	46,3 54,7	17,6 159,0	22,0 73,6	14,0 34,0	Juli	18.	22.	5	3,63	19./7.
1908	M. d. L.-T. Niedersch.	6,6 55,2	15,1 94,6	19,0 44,8	18,8 127,2	19,1 60,9	12,4 49,5	Juli	27.	30.	4	3,49	29./7.
1909	M. d. L.-T. Niedersch.	8,0 46,3	11,5 55,3	16,4 62,3	17,3 143,2	21,1 49,5	15,1 35,9	Mai Juni Juli	10. 19. 17.	— 19. 18.	1 2 2	3,42 3,40 3,41	10./5. 19./6. 17. 18./7.
1910	M. d. L.-T. Niedersch.	8,5 30,4	14,1 82,9	18,7 42,6	17,3 97,8	21,2 76,1	15,1 132,6	Mai Sept.	8. 9.	10. 15.	3 7	3,48 3,82	9./5. 10. 11./9.
1911	M. d. L.-T. Niedersch.	8,6 26,4	14,3 60,6	16,6 29,8	20,2 16,8	23,9 46,5	15,0 48,4	Mai	23.	27.	5	3,69	24. 25./5.
1912	M. d. L.-T. Niedersch.	6,9 51,5	12,2 60,9	17,9 89,7	20,3 35,6	19,1 114,3	9,5 52,9						
1913	M. d. L.-T. Niedersch.	9,0 40,0	13,2 62,1	16,6 39,5	16,1 102,9	19,0 116,4	13,2 32,1	Aug.	21.	23.	3	3,56	22./8.
1914	M. d. L.-T. Niedersch.	10,5 23,1	12,7 63,4	17,0 35,2	20,1 113,7	21,7 36,7	11,3 53,8						
1915	M. d. L.-T. Niedersch.	8,5 72,3	14,7 12,6	19,0 88,5	18,3 130,9	18,7 134,5	12,1 61,6	Aug.	7.	12.	6	3,81	9./8.
1916	M. d. L.-T. Niedersch.	9,0 38,0	14,3 28,5	15,0 102,3	17,9 76,5	19,8 101,7	12,5 30,2						

1) Epidemiejahr.

Mittlere Lufttemperatur und Niederschlagshöhen in Millimeter während der Monate April bis September in den Jahren 1890—1927								Stand der Oder am Pegel bei Treschen. (Von 3,40 m an Aus- uferung.)					
Jahr	Mittel der Lufttemp. bzw. Menge der Nieder- schläge in mm	April	Mai	Juni	Juli	August	September	Wasserst. über Ausferungshöhe (3,40 m)				Pegelhöchst- stand	
								Monat	von	bis	also Tage	in m	am
1917	M. d. L.-T. Niedersch.	5,3 98,7	15,0 24,1	21,1 10,3	18,8 84,5	22,1 65,7	15,7 10,8	April	3.	13.	11	3,53	11./4.
1918	M. d. L.-T. Niedersch.	12,7 20,8	14,3 23,3	14,8 70,8	17,8 123,3	20,1 75,5	14,9 37,9						
1919	M. d. L.-T. Niedersch.	7,1 43,7	10,5 59,6	16,0 51,3	15,8 101,3	19,6 32,6	16,7 48,3						
1920	M. d. L.-T. Niedersch.	12,1 56,4	15,7 69,7	15,0 76,4	20,3 102,4	20,2 62,2	14,1 37,3	Juli	14.	15.	2	3,45	14. 15./7.
1921	M. d. L.-T. Niedersch.	8,7 43,6	14,8 40,9	15,4 76,0	19,0 23,2	21,9 18,7	13,1 27,5						
1922	M. d. L.-T. Niedersch.	7,8 33,0	13,6 30,0	17,1 49,8	17,5 111,9	19,9 86,5	10,9 46,3						
1923	M. d. L.-T. Niedersch.	7,1 28,5	14,1 43,1	13,0 59,7	18,8 57,0	19,5 46,1	14,4 34,5						
1924	M. d. L.-T. Niedersch.	7,1 32,2	14,6 77,2	16,7 68,7	18,0 28,4	19,5 58,2	15,0 68,8	März April	27. 1.	31. —	5 1	3,61 3,42	29./3. 1./4.
1925	M. d. L.-T. Niedersch.	8,8 36,5	15,1 47,6	15,0 72,9	18,7 103,0	19,9 139,7	12,2 42,0	Aug.	6.	9.	4	3,76	8./8.
1926 ¹⁾	M. d. L.-T. Niedersch.	10,5 28,1	12,4 45,4	15,4 205,8	19,0 107,2	18,8 88,8	14,6 37,2	Juni Aug.	18. 5.	25. 6.	8 2	3,80 3,49	19./6. 6./8.
1927 ¹⁾	M. d. L.-T. Niedersch.	7,9 94,0	10,9 59,3	16,0 162,1	19,0 138,4	20,6 52,1	13,7 65,5	April	19.	—	1	3,40	19./4.

In den 3 Schlammfieberjahren erfolgte der Seuchenausbruch in der Zeit lebhafter landwirtschaftlicher Arbeit, besonders auf den Wiesen. In den drei Jahren waren also die Vorbedingungen für das Zustandekommen der Epidemie, von denen ich oben gesprochen, gegeben. Jedesmal verlief sich die Epidemie erst im September, also mit dem Einsetzen kühlerer Witterung.

Eine Durchsicht der Tabelle lehrt aber weiterhin, daß, wenn auch jene 3 Vorbedingungen erfüllt sind, es dann doch nicht zu einem Seuchenausbruch kommen muß. Zwei weitere Momente sind nach der Richtung noch von Bedeutung: die aggressiven Eigenschaften der Spirochäten und die Abwehrkräfte der gefährdeten Menschen. Darüber nachher noch einige Worte.

Handelt es sich also beim Schlammfieber um ein kurzfristiges Spirochätenfieber, wie ich glaube nachgewiesen zu haben, auf welche Weise kommt es dann, da ja der Infektionsverband Mensch—Wasser bzw. versumpfter Boden als gesichert zu betrachten ist, zu jener ungeheuren Verbreitung der Spirochäten, die allein erst den Ausbruch solcher gewaltigen Epidemien verständlich macht?

Daß die Ratte sporadische und auch gehäufte Fälle verursachen könnte, braucht nach den Feststellungen von Uhlenhuth-Frome (33) und Uhlenhuth-Zuelzer (26) über die Aetiologie und Epidemiologie der Weilschen Krankheit und den erheblichen Prozentsatz der Spirochätenträger und -ausseider unter den Ratten nicht bezweifelt zu werden.

Aber zur Erklärung der Epidemiologie der gewaltigen Schlammfieber-epidemien dürfte das nicht ausreichen.

Nun wiesen aber schon 1921 Uhlenhuth und Zuelzer (25) bezüglich der Wasserspirochäte vom Icterogenes-Typ, damals noch als „Pseudoictero-

genes“ bezeichnet, nach, daß „wir es hier mit einem sehr weit verbreiteten Mikroorganismus zu tun haben“.

Die Untersuchungen von Baermann und Zuelzer (18) haben diese Ansicht für tropische Gegenden in überraschender Weise bestätigt. Aus ihren Arbeiten wissen wir, daß diese Spirochäten in Wässern der verschiedensten chemischen Zusammensetzung, vergesellschaftet sowohl mit Oligo- als auch mit Meso-Saprobien [Kolkwitz (36)] leben können, daß sie aber ihre optimalen Lebensbedingungen bei Anwesenheit von in Abbau befindlichen Proteinkörpern und von Schwefelwasserstoff finden.

Derartige Bedingungen sind zweifellos gegeben bei gedüngten Feldern und Wiesen, die überflutet werden. Ich glaube daher, daß Icterogenes-Spirochäten, die ursprünglich im Wasser vorhanden sind, sich auf dem überschwemmten Gelände dank den günstigen Entwicklungsbedingungen (Nährstoffe, Wärme), gewaltig vermehren, zu einer Durchseuchung der Wassermassen führen und direkt durch die Haut oder per os die Menschen infizieren. Ich befinde mich mit dieser Ansicht in Übereinstimmung mit Baermann und Zuelzer (17), die die Vermutung geäußert haben, daß beim Zustandekommen der kurzfristigen Spirochätenfieber epidemiologisch „Überschwemmungen und alle Faktoren, die Fischbrut, Flora und Fauna, und die ubiquitäre saprophytisch lebende Wasserspirochäte von einem Gewässer zum anderen über große Länderstrecken verschleppen, das dominierende Moment darstellen“.

Trotz der angenommenen Ubiquität des Erregers genügen, wie ich vorhin schon kurz erwähnte, Überschwemmungen bzw. Durchnässungen des Bodens, warme Jahreszeit, enge und langdauernde Berührung mit dem Wasser bzw. dem Boden meines Erachtens aber noch nicht, um das epidemiologische Problem des Schlammfiebers restlos zu lösen.

In Betracht kommt noch der Immunitätszustand der betreffenden Bevölkerung, der nach einem großen Seuchenausbruch allmählich immer geringer wird, vor allem wohl Schwankungen in der Virulenz der Spirochäten, die wir in Analogie zu anderen Infektionserregern als gegeben annehmen dürfen.

Zum Schluß noch ein Wort über die Prophylaxe und die Therapie bei Schlammfieberepidemien.

Ich bin überzeugt, durch die Fernhaltung der ländlichen Bevölkerung von ihren überschwemmten bzw. verschlammten Wiesen und Feldern würde sich ein Seuchenausbruch, wie wir ihn im Jahre 1926/27 erlebten, mit Sicherheit vermeiden lassen. Für ausgeschlossen halte ich es aber, eine derartige Maßnahme in der ländlichen Bevölkerung, die an sich schon schwer genug um ihre Existenz kämpfen muß, durchzusetzen. Es handelt sich um Notstandsarbeiten, die verrichtet werden müssen und von deren Verrichtung sich der Landmann nicht abhalten läßt. Nur hinsichtlich des Badens könnte ich mir einen Erfolg von gründlicher Aufklärung der Bevölkerung versprechen.

Die Therapie wird eine symptomatische sein müssen. In Rücksicht auf die häufige Beteiligung des Magen-Darmkanals empfiehlt sich eine Diät wie bei Typhus. Tritt Bluterbrechen ein, so ist der Fall wie ein Ulcus ventriculi zu behandeln. Die an sich Erfolg verheißende Anwendung von Heilserum, wie sie bei Weilscher Krankheit bzw. kurzfristigem Spirochätenfieber empfohlen wurde [Uhlenhuth und Fromme (33), Baermann und Smits (19)], dürfte bei plötzlich ausbrechenden Schlammfieberepidemien kaum in Frage kommen, da es praktisch unmöglich ist, die erforderlichen Serummengen ständig vorrätig zu halten.

Schlußsätze.

Das sogenannte Schlammfieber, das nach Ueberschwemmungen in der warmen Jahreszeit unter der landwirtschaftlich tätigen Bevölkerung gelegentlich in gewaltigen Epidemien auftritt, entspricht klinisch, epidemiologisch und pathologisch-anatomisch der Weilschen Krankheit bzw. ihrer abortiven Form, dem kurzfristigen Spirochätenfieber.

Da auch der Nachweis der *Spirochaete icterogenes* s. *biflexa* im Blute Erkrankter und in der Leiche gelang, erscheint die Auffassung berechtigt, daß das Schlammfieber ein kurzfristiger Morbus Weil ist.

Literatur.

- 1) Werner, Zur Klinik des „Sumpffiebers“. (Dtsch. med. Wochenschr. 1927. Nr. 39). —
- 2) Schemensky, Ueber das Sumpf- oder Schlammfieber. (Münch. med. Wochenschr. 1927. Nr. 39). — 3) Müller, Fr., Die Schlammfieberepidemie in Schlesien vom Jahre 1891. (Ebenda. 1894. Nr. 40). — 4) Schmidtman, Die sogenannte Schlammkrankheit im Reg.-Bez. Oppeln während des Sommers 1891. (Ztschr. f. Med.-Beamte. 1892. S. 77). — 5) Neumann, Angebliche Typhusepidemie im Kreise Glogau. (Ebenda. 1892. S. 675). — 6) Dietrich, Beobachtungen über eine Infektionskrankheit des Ueberschwemmungsgebietes der schwarzen Elster. (Ebenda. 1892. H. 11). — 7) Gerhardt u. Rubner, Ueber die im Odergebiet 1891 beobachtete Schlammkrankheit. (Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. 3. Folge. Bd. 5. 1893. S. 382). — 8) Schulte, Epidemische Erkrankungen an akutem Exanthem mit typhösem Charakter. (Veröffentl. a. d. Geb. d. Militärsanitätswes. 1893. H. 4). — 9) Rimpau, Ueber das Vorkommen von Schlamm-(Ernte-)fieber in Südbayern im Sommer 1926. (Münch. med. Wochenschr. 1927. Nr. 22). — 10) Marmann, Das Schlammfieber. Volkswohlfahrt. 1926. Nr. 17. — 11) Praussnitz u. Lubinski, Schlammfieber. Berl. Klin. Wochenschr. 1926. Nr. 44. — 12) Kaneko, Ueber die patholog. Anatomie der Spirochaetosis Ictero-Hämorrhagica Inada (Weilsche Krankheit). Verlag Jul. Springer. 1922. — 13) Uhlenhuth u. Fromme, Experimentelle Untersuchungen über die sogenannte Weilsche Krankheit. (Med. Klinik. 1915. Nr. 44, 46, 47, 50). — 14) Dies., Zur Aetiologie der Weilschen Krankheit. (Berl. klin. Wochenschr. 1916. Nr. 11). — 15) Inada, Ido, Kaneko, Hoki u. Ito, Journal of Exp. Med. Vol. 23. Nr. 3. 1916; ref. Kaneko. vgl. Nr. 12. — 16) Ido u. Wani, Aetiologie, Epidemiologie u. Pathologie des Siebentagefiebers; ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 71. 1921. S. 519. — 17) Baermann u. Zuelzer, Ueber die Aetiologie der Weilschen Krankheit. (Berl. klin. Wochenschr. 1927. Nr. 21). — 18) Dies., Die Einheitlichkeit aller tier- und menschenpathogenen Spirochäten usw. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 105. 1928. S. 345). — 19) Baermann u. Smits, Diagnose, Klinik, Epidemiologie und Therapie der kurzfristigen Weilschen Erkrankung. (Ebenda. S. 368). — 20) Zuelzer, Zur Hydrobiologie der Spiroch. icterogenes usw. (Ebenda. S. 384). — 21) Weil, Ueber eine eigentümliche Infektionskrankheit. (Dtsch. Arch. f. kl. Med. Bd. 39. S. 209). — 22) Fiedler, Zur Weilschen Krankheit. (Ebenda. Bd. 42. S. 232). — 23) Hecker u. Otto, Beiträge zur Lehre von der sogenannten Weilschen Krankheit. (Veröff. a. d. Gebiete des Militärsanitätswesens. 1911). — 24) Reiter, Die Weilsche Krankheit. (Ztschr. f. klin. Med. Bd. 88. H. 5 u. 6). — 25) Uhlenhuth u. Zuelzer, Zur Epidemiologie der Weilschen Krankheit. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 85. 1921. Beiheft. S. 144. — 26) Dies., Ueber das Vorkommen des Erregers der ansteckenden Gelbsucht in frei lebenden Berliner Ratten. (Med. Klinik. 1919. Nr. 51). — 27) Hermann, Serologische Untersuchungen bei Spirochäten vom Typus Weil. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 104. 1927. Beiheft. S. 192). — 28) Herzheimer, Beitrag zur Pathologie der Weilschen Krankheit. (Berl. Klin. Wochenschr. 1916. Nr. 19). — 29) Beitzke, Weilsche Krankheit. (Handbuch d. ärztl. Erfahrungen im Weltkrieg. Bd. 8. 1921). — 30) Miller, Ueber die pathol. Anatomie u. Uebertragung der Weilschen Krankheit. (Ztschr. f. Hyg. usw. Bd. 86. S. 161). — 31) Reinhardt, Demonstrationen der Erreger u. histol. Präparate der Weilschen Krankheit. (Münch. med. Wochenschr. 1917. Nr. 36). — 32) Hoffmann, Die markige Schwellung der Darmfollikel bei der Leptospirainfektion. (Münch. med. Wochenschr. 1924. S. 428). — 33) Uhlenhuth u. Fromme, Experimentelle Untersuchungen über den Infektionsmodus, die Epidemiologie u. Serumbehandlung der Weilschen Krankheit. (Ztschr. f. Immunitätsf. Bd. 28. 1919. S. 1—2). — 34) Globig, Ueber eine Epidemie infolge Badens im Sommer 1890. (Deutsche militärärztliche Zeitung. 1891. S. 456 und 513). — 35) Lubarsch, Pathologie der Weilschen Krankheit. (Lubarsch-Ostertag. Ergebnisse. 19. Jahrg. 1919. S. 560). — 36) Kolkwitz, Pflanzenphysiologie. G. Fischer. 1922.

Erklärung der Tafelabbildungen.

(Die Photogramme sind sämtlich unretuschiert).

Tafel I.

Fig. 1. Geschwüre im Ileum dicht oberhalb der Klappe. (Natürl. Größe).

Fig. 2. Markig geschwollener Payerscher Plaque im untersten Ileum, oberflächlich nekrotisch. Auf der Serosa peritonitische Auflagerungen. (Uebersichtsbild).

Fig. 3. Darmgeschwür im untersten Ileum. Abstoßung der nekrotischen Partie. (Uebersichtsbild).

Fig. 4. Innenfläche des Magens. (Natürl. Größe). Hämmorrhagische Erosionen der Schleimhaut und tiefgreifende Geschwüre.

Tafel II.

Fig. 5. Niere, Rindensubstanz. Hämatoxylin-Eosin. Vergr. 80. Glomeruli nur wenig geschädigt. Beginnender Epithelzerfall in den gewundenen Kanälchen; gallig verfärbte Cylinder in den geraden Kanälchen. Starke entzündliche kleinzellige Infiltration.

Fig. 6. Niere, Marksubstanz. Färbung und Vergrößerung wie Fig. 5. Gerade Harnkanälchen; vollgestopft mit gallig verfärbten Zylindern und abgestoßenen zerfallenden Epithelmassen. Starke entzündliche kleinzellige Infiltration.

Fig. 7. Leber, Färbung u. Vergrößerung wie Fig. 5. Zerfall der Leberzellen.

Fig. 8. Herz, linker Ventrikel. Färbung u. Vergrößerung wie Fig. 5. Herd- bzw. streifenförmige „Myodegeneratio cordis“. Muskelzellschollen gallig verfärbt. Auch der erhaltene Muskel kleinzellig infiltriert.

Tafel III.

Fig. 9. Kulturspirochäten. Ausstrichpräparat. Gewöhnliche Fixierung. Giemsa-Färbung. Vergr. 600.

Fig. 10. Wie Fig. 9, auch Fixierung und Färbung. Vergrößerung 1600. Knopfförmige Enden der Spirochäten.

Fig. 11. Wie Fig. 9, auch Fixierung und Färbung. Vergrößerung 2100. Primärwindungen deutlich; Leib der Spirochäten gestreckt, Enden abgebogen.

Fig. 12. Nierenschnitt. Levaditi. Zylinder mit zahlreichen Spirochäten. Vergr. 700.

Fig. 13. Wie Fig. 12. Vergr. 1700.

*Nachdruck verboten.***Ueber die Wirkung der Galle auf Sklerombazillen.**

[Aus dem Weißrussischen Mikrobiologischen Institut in Minsk (Direktor: Prof. B. Elbert).]

Von Prof. **B. J. Elbert** und **W. M. Gerkess**.

In einer früheren Arbeit¹⁾ hat sich der eine von uns mit der Erforschung der Agglutinabilität von Mikroben der Schleimkapselgruppe, besonders des Frisch-Bazillus, beschäftigt und ebenso das Vorkommen von Agglutininen im Serum von Rhinoskleromkranken und von Versuchstieren (Pferd, Kaninchen), welche mit verschiedenen Kapselbakterien immunisiert war, untersucht. Die durch diese Untersuchungen erhaltenen Resultate beweisen eindeutig, daß serologisch dem Frisch-Stäbchen ein vollkommen selbständiger Platz in der Reihe der Mikroben vorliegender Kapselgruppe gebührt.

Der Rhinosklerombazillus unterscheidet sich nach seinen serologischen Merkmalen scharf vom Diplobazillus Friedländer, vom Bac. aërogenes, vom Abel-Löwenberg-Stäbchen und Bac. Pfeifferi, und die von ihm erzeugten Agglutinine agglutinieren hauptsächlich den homolog. Stamm und

1) B. J. Elbert, Untersuchungen über die Agglutinabilität des Frisch-Bazillus und die Agglutination bei Rhinosklerom. Centralbl. f. Bakt. Noch nicht erschienen — Elbert, Feldmann u. Gerkess. Centralbl. f. Bakt. Bd. 96. u. 101; Arbeiten des Weißrussischen Bakt. Institutes. Bd. 1. 1926 [russisch].

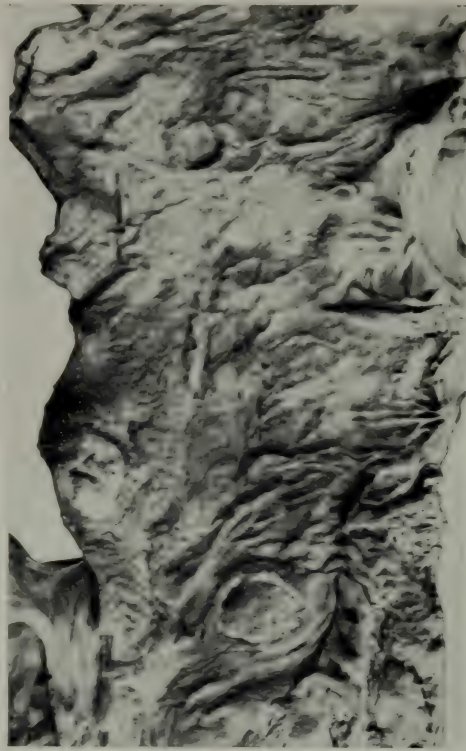


Abb. 1

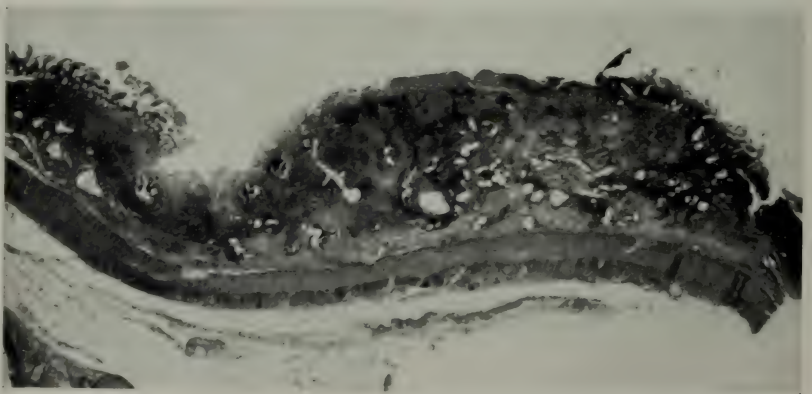


Abb. 2

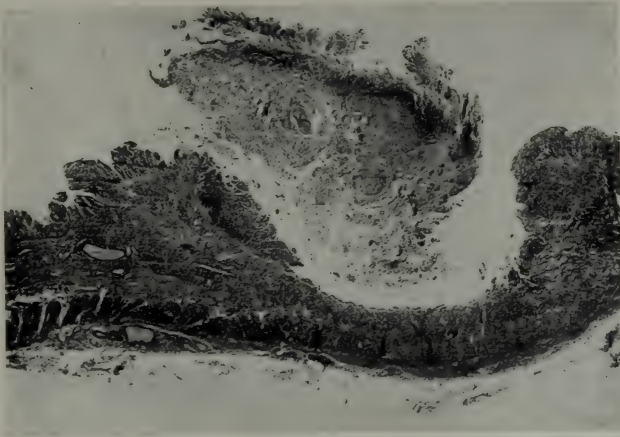


Abb. 3

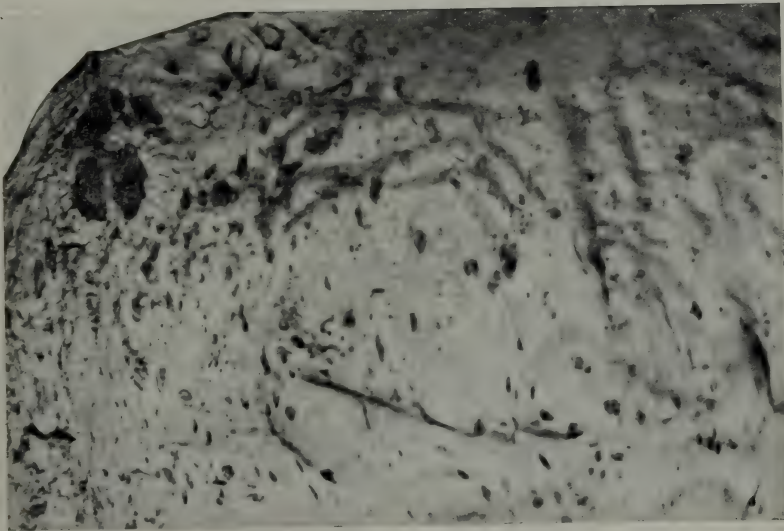


Abb. 4



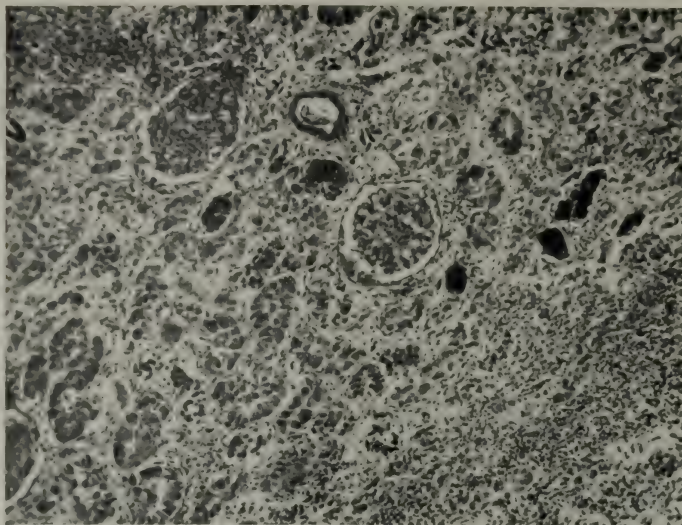


Abb. 5

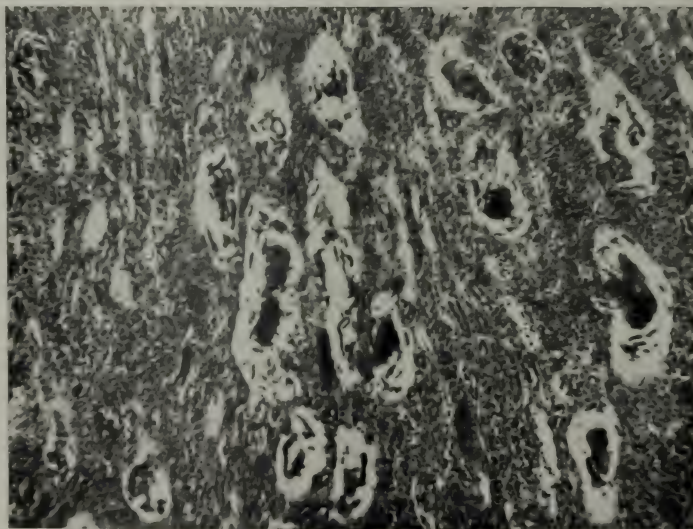


Abb. 6

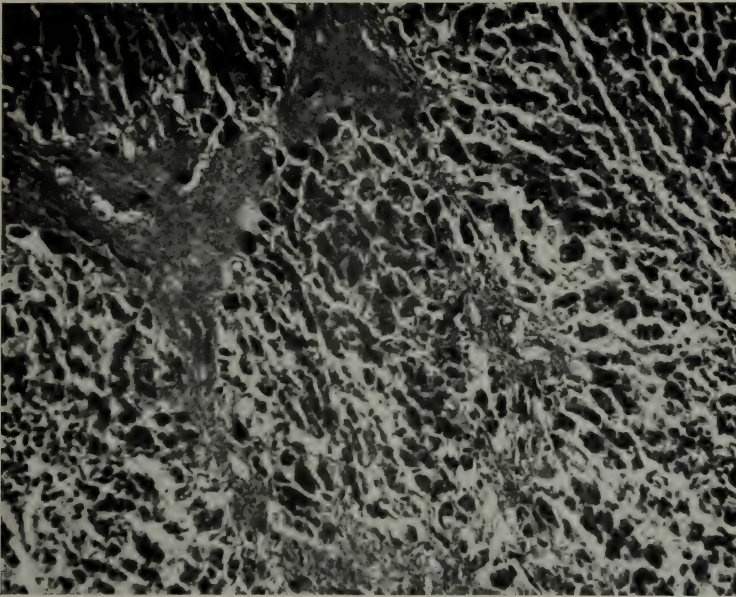


Abb. 7

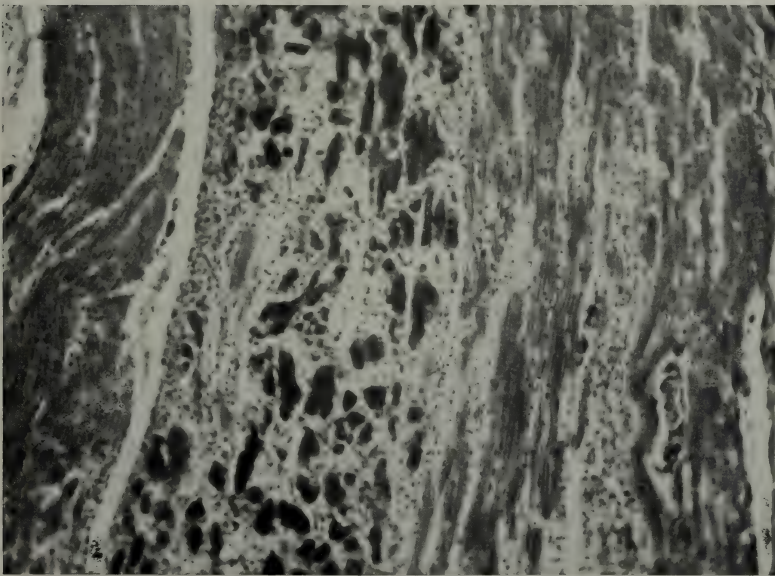
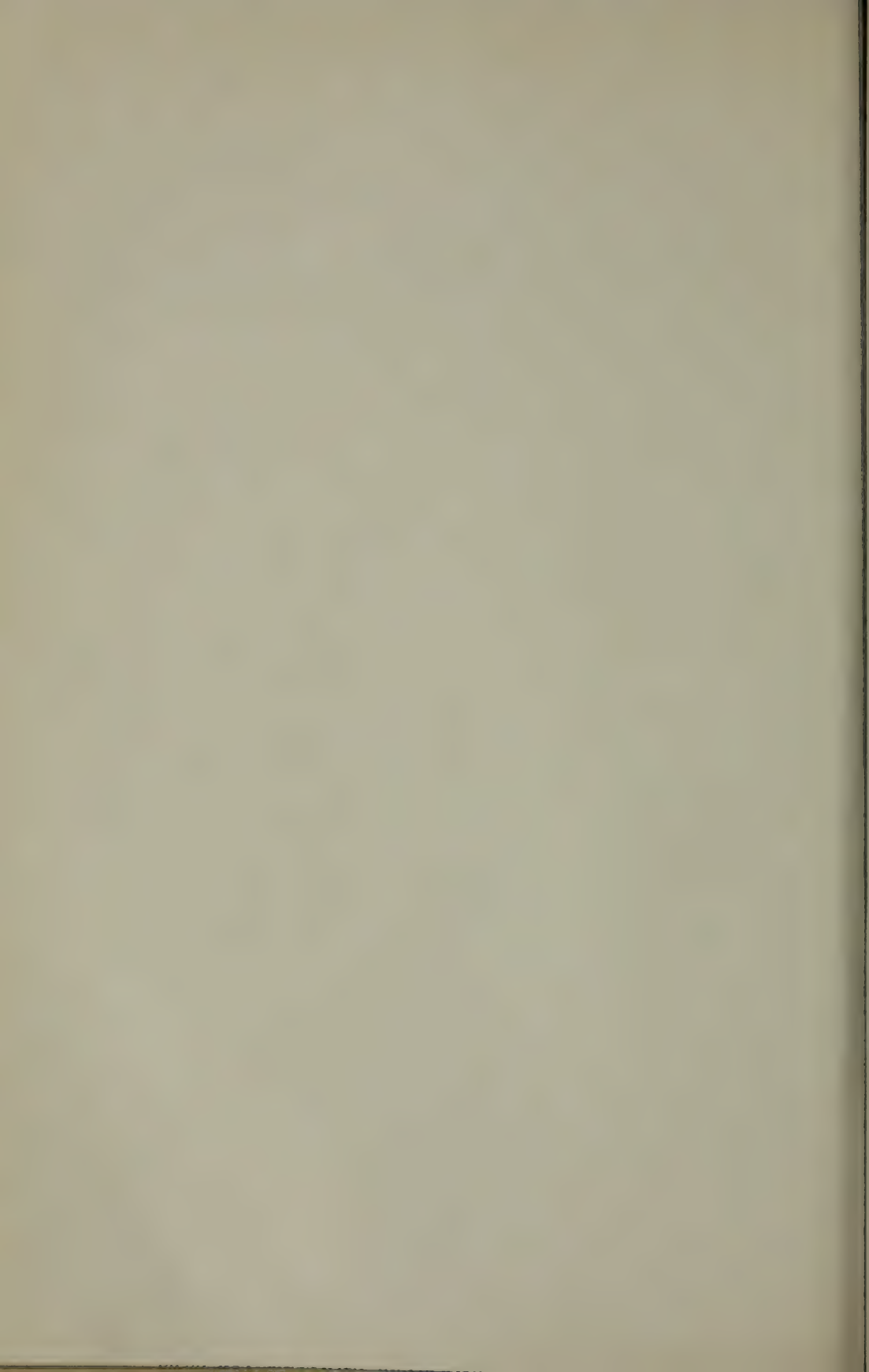


Abb. 8



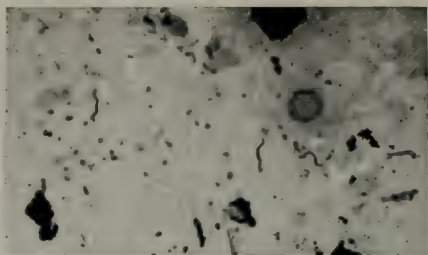


Abb. 9

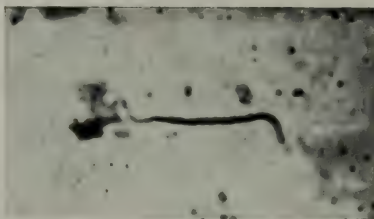


Abb. 11

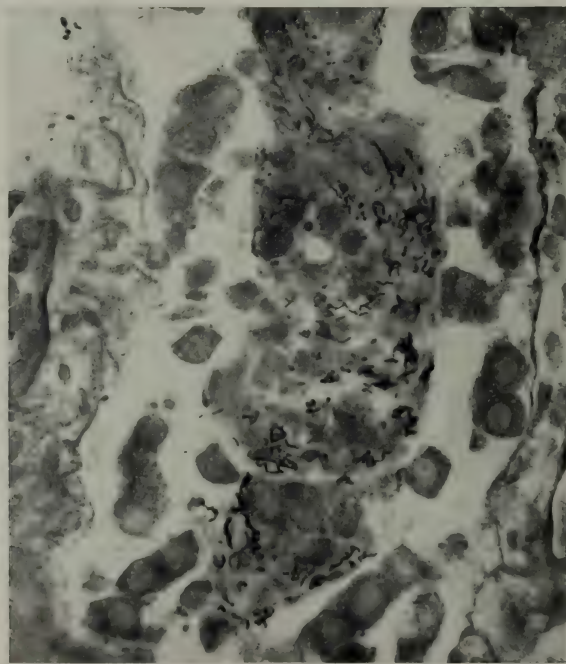


Abb. 12

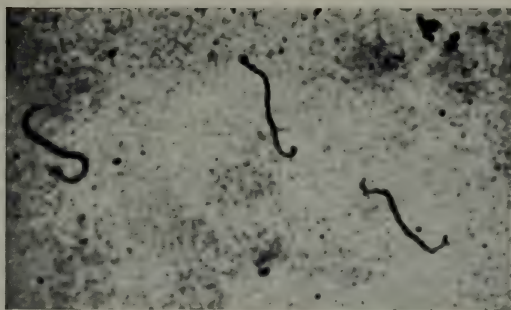


Abb. 10

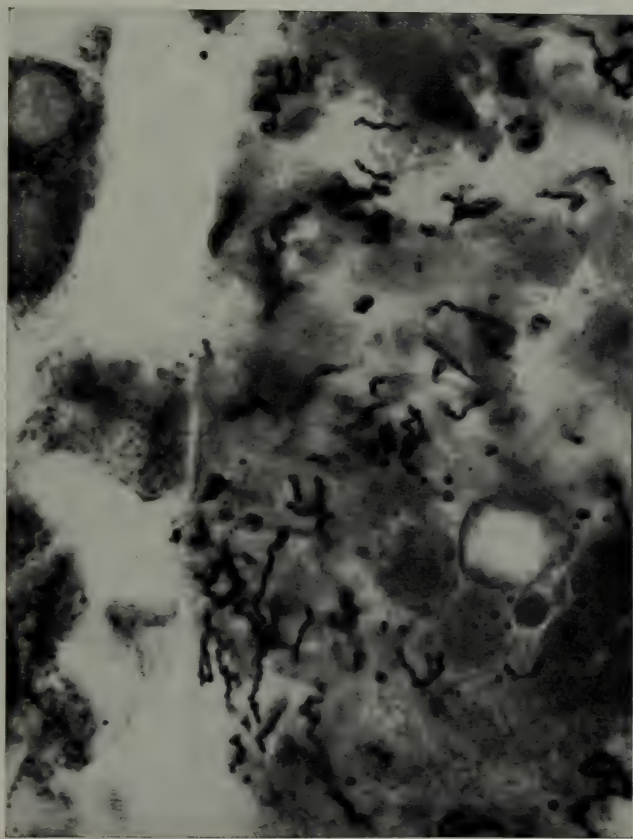
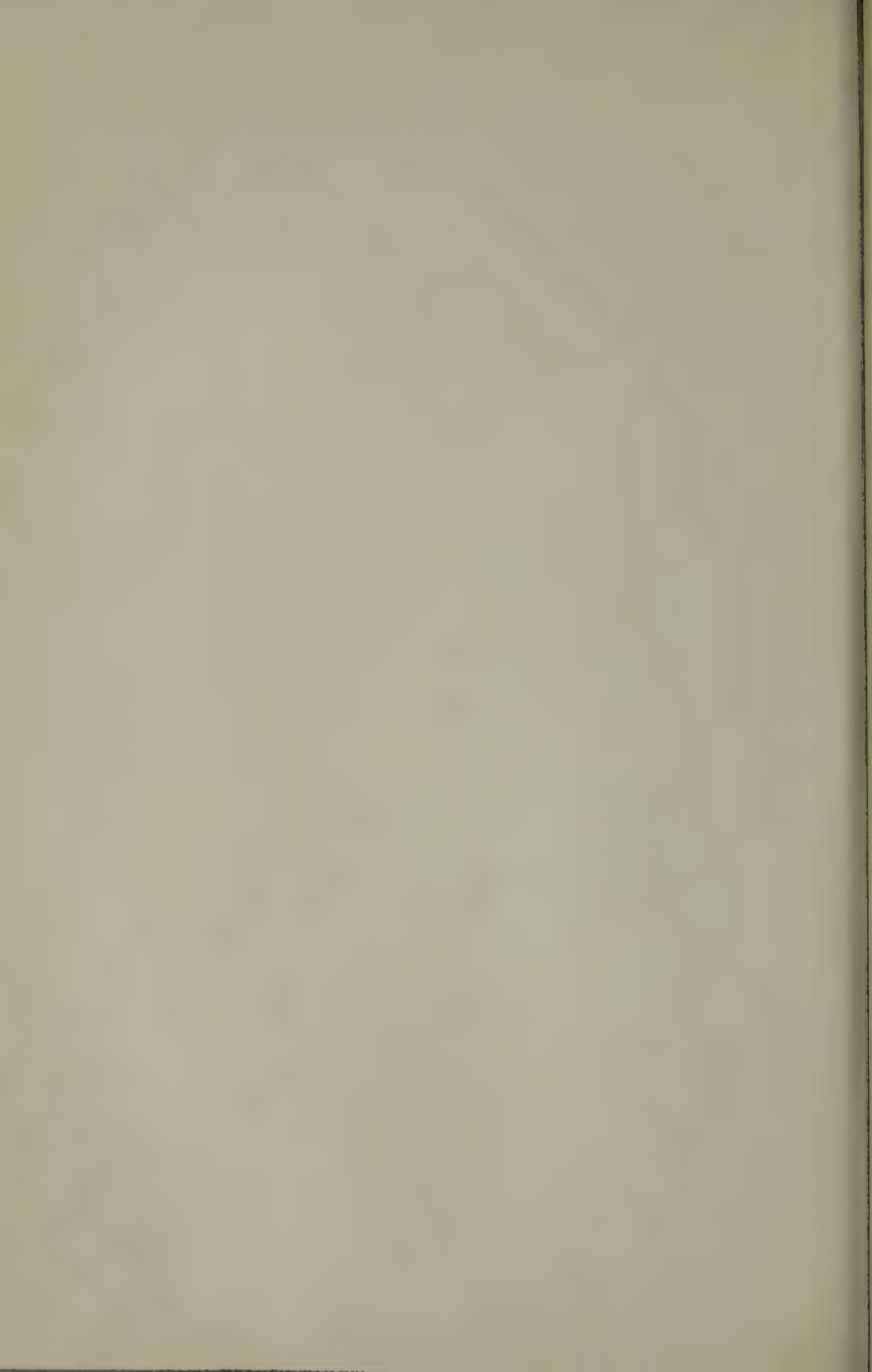


Abb. 13



nur in geringer Verdünnung andere Kapselmikroben. Als Agglutinogen wurde ein von seiner Kapsel befreiter Mutant benutzt, welcher sich auf dem Nährboden neben der Grundschleimform entwickelte.

In unseren früheren Arbeiten über die Komplementbindungsreaktion bei Rhinosklerom und über ihre epidemiologische und klinische Bedeutung haben wir auf Grund eines großen klinischen und Laboratoriumsmaterials die Möglichkeit gehabt, darauf hinzuweisen, daß im Serum von Rhinoskleromkranken als Regel sich spezifischer Ambozeptor ausschließlich in Beziehung zum Frisch-Bazillus bildet. Schließlich wurde von uns vice versa bemerkt, daß beim Studium des bakteriologischen Charakters der aus dem Schleim ausgeschiedenen Stämme der Methode Bordet-Gengou eine äußerst wichtige Rolle zukommt. Sowohl die Befunde, die in vorliegender Arbeit aufgeführt werden, als auch das von uns bisher gesammelte Material weisen mit Gewißheit darauf hin, daß man mit Hilfe eines spezifischen Ambozeptors leicht den Charakter der isolierten Kultur bestimmen kann.

Auf solche Weise kann mit Sicherheit behauptet werden, daß man dem Rhinoskleromstäbchen, dem sogenannten Frisch-Bazillus, eine vollkommen selbständige biologische Rolle zuschreiben kann; die entgegengesetzten Ansichten einer ganzen Reihe von Autoren müssen als irrtümlich angesehen werden.

Indem wir weiter den Charakter von verschiedenen Mikroben, Vertretern der Schleimkapselgruppe, studierten, richteten wir unser Augenmerk auf ihre Resistenz verschiedenen Stoffen gegenüber, wobei es sich zeigte, daß eine Eigenschaft für den Unterschied zwischen dem Frisch-Bazillus und allen anderen Bazillen besonders typisch ist. Während das Frisch-Stäbchen sich als wenig widerstandsfähig der auflösenden Wirkung der Ochsengalle gegenüber erwies, vermehren sich alle andern Schleimkapselmikroben in ihr.

Zieht man in Betracht, wie wenig bis jetzt die Systematik der Kapselbakterien ausgearbeitet ist, so müßte man vorliegendem Merkmale eine wichtige diagnostische Bedeutung beimessen. Es wird so, abgesehen von praktischen Konsequenzen, unsere Ansicht von der Selbstständigkeit der biologischen Rolle des Rhinoskleromstäbchens noch mehr bestätigt.

Die einfache Methodik unserer Untersuchungen bestand in folgendem: Eine Platinöse von einer Agarkultur eines Schleimkapselmikroben, welcher aus dem Schleim von Kranken an Rhinosklerom, Ozaena usw. isoliert wurde, wurde in eine Flasche, die 25—30 ccm sterilisierte Ochsengalle enthielt, geimpft. Die beimpfte Galle wurde in den Brutschrank bei 37° C gestellt. Alle 24 Std. im Laufe von 4 Tagen wurde eine Verimpfung auf eine Petri-Schale mit schwach-alkalischem Agar gemacht, die dann in den Brutschrank auf 24 Std. gelangte.

Nachstehend das Resultat unserer Untersuchungen. Kultur Nr. 1. Auf Agar Perlmutter-Schleimwuchs. Im Tuschepräparat: Kapsel-Diplobazillus, gramnegativ. Diese Kultur gibt in einer Dosis von 0,05 mit Skleromserum vollkommene Komplementbindung (++++)¹⁾. Das Serum eines Kranken, von dem die betreffende Kultur gewonnen wurde, gibt mit einer bestimmten Kultur des Rhinoskleromstäbchens gleichfalls eine scharf positive Komplementbindungsreaktion (++++)²⁾.

1) Zur Abkürzung in den folgenden Protokollen: K.

2) Zur Abkürzung in den folgenden Protokollen: S.

Fermentationsreaktion.

	Säure	Gas
Laktose	— nach 5 Tagen	— nach 5 Tagen
Glukose	+ „ 1 Tag	— „ 5 „
Saccharose	+ „ 2 Tagen	— „ 5 „

Verimpfung aus der Galle auf Agar nach

1	2	3	4 × 24 Stunden
—	—	—	— (= kein Wachstum)

Kultur Nr. 2 a.

Schleimig.	Gramnegativ.	K —.	S —.
	Säure		Gas
Laktose	— 5		— 5
Glukose	+ 1		— 5
Saccharose	+ 2		— 5

Galle:	1	2	3	4
	+	+	+	+
				(Wachstum)

Kultur Nr. 2 b.

Schleimig.	Gramnegativ.	K —.	
	Säure		Gas
Laktose	— 5		— 5
Glukose	— 5		— 5
Saccharose	— 5		— 5

Galle:	1	2	3	4
	+	+	+	+
				(Wachstum)

Kultur Nr. 3.

Schleimig.	Gramnegativ.	K + + + +.	
	Säure		Gas
Laktose	— 5		— 5
Glukose	+ 1		— 5
Saccharose	+ 2		— 5

Galle:	1	2	3	4
	—	—	—	—

Kultur Nr. 4.

Schleimig.	Gramnegativ.	K + + + +.	
	Säure		Gas
Laktose	— 5		— 5
Glukose	+ 1		— 5
Saccharose	+ 2		— 5

Galle:	1	2	3	4
	—	—	—	—

Kultur Nr. 5.

Schleimig.	Gramnegativ.	K + + + +.	
	Säure		Gas
Laktose	— 5		— 5
Glukose	+ 1		— 5
Saccharose	+ 2		— 5

Galle:	1	2	3	4
	—	—	—	—

Kultur Nr. 6.

Schleimig. Gramnegativ. K +++++.

	Säure		Gas	
Laktose	—	5	—	5
Glukose	+	1	—	5
Saccharose	+	2	—	5
Galle:	1	2	3	4
	+	—	—	—

Kultur Nr. 7.

Schleimig. Gramnegativ. K +++++. S +++++.

	Säure		Gas	
Laktose	—	5	—	5
Glukose	+	1	—	5
Saccharose	+	1	—	5
Galle:	1	2	3	4
Einzelmenge	—	—	—	—

Kultur Nr. 8.

Schleimig. Gramnegativ. K +++++. S +++++.

	Säure		Gas	
Laktose	—	5	—	5
Glukose	+	1	—	5
Saccharose	+	2	—	5
Galle:	1	2	3	4
	—	—	—	—

Kultur Nr. 9.

Schleimig. Gramnegativ. K —. S. +++++.

	Säure		Gas	
Laktose	+	1½	+	1½
Glukose	+	1	+	1
Saccharose	—	5	—	5
Galle:	1	2	3	4
	+	+	+	+

Kultur Nr. 10.

Schleimig. Gramnegativ. K +++++. S +++++.

	Säure		Gas	
Laktose	—	5	—	5
Glukose	+	1	—	5
Saccharose	+	2	—	5
Galle:	1	2	3	4
	—	—	—	—

Kultur Nr. 11.

Schleimig. Gramnegativ. K +++++. S +++++.

	Säure		Gas	
Laktose	—	5	—	5
Glukose	+	1	—	5
Saccharose	+	2	—	5
Galle:	1	2	3	4
1. Mal	—	—	—	—
2. Mal	+	+	+	+

Kultur Nr. 12.

Schleimig. Gramnegativ. K + + + +, S + + + +.

	Säure		Gas	
Laktose	—	5	—	5
Glukose	+	1	—	5
Saccharose	+	3	—	5
Galle:	1	2	3	4
	—	—	—	—

Kultur Nr. 13.

Schleimig. Gramnegativ. K —, nicht gestellt. S + + + +.

	Säure		Gas	
Laktose	—	5	—	5
Glukose	+	1	—	5
Saccharose	+	3	—	5
Galle:	1	2	3	4
	—	—	—	—

Kultur Nr. 14.

Schleimig. Gramnegativ. K —.

	Säure		Gas	
Laktose	+	1½	+	1½
Glukose	+	1	+	1
Saccharose	+	1	+	1
Galle:	1	2	3	4
	+	+	+	+

Kultur Nr. 15.

Schleimig, ungleichartig. Gramnegativ. K + + + +. S + + + +.

	Säure		Gas	
Laktose	+	1	—	5
Glukose	+	1	—	5
Saccharose	+	1	—	5
Galle:	1	2	3	4
	+	+	+	+

Aus der Agarkultur Nr. 15 ist auf der Petri-Schale durch die Methode der mikroskopischen Aussaat (nach Oerskov) eine junge Kolonie 15 a ausgeschieden, die ihrem Aussehen nach an die Kolonie der Rhinosklerombazillen erinnert.

Kultur Nr. 15 a

Schleimig. Gramnegativ. K + + + +.

	Säure		Gas	
Laktose	—	5	—	5
Glukose	+	1	—	5
Saccharose	+	2	—	5
Galle:	1	2	3	4
	—	—	—	—

Kultur Nr. 16.

Schleimig. Gramnegativ. K —. S —.

	Säure		Gas	
Laktose	—	5	—	5
Glukose	—	5	—	5
Saccharose	—	5	—	5
Galle:	1	2	3	4
	+	+	+	+

Kultur Nr. 17.

Schleimig. Gramnegativ. K nicht gestellt. S nicht gestellt

	Säure		Gas	
Laktose	+	1	—	5
Glukose	+	1	—	5
Saccharose	+	2	—	5
Galle:	1	2	3	4
	+	+	+	+

Kultur Nr. 18.

Schleimig. Gramnegativ. K +++++. S +++++.

	Säure		Gas	
Laktose	—	5	—	5
Glukose	+	1	—	5
Saccharose	+	3	—	5
Galle:	1	2	3	4
	—	—	—	—

Kultur Nr. 19.

Schleimig. Gramnegativ. K —. S —.

	Säure		Gas	
Laktose	—	5	—	5
Glukose	+	1	—	5
Saccharose	+	2	—	5
Galle:	1	2	3	4
	+	+	+	+

Kultur Nr. 20.

Schleimig. Gramnegativ. K +++++. S +++++.

	Säure		Gas	
Laktose	—	5	—	5
Glukose	+	1	—	5
Saccharose	+	2	—	5
Galle:	1	2	3	4
Einzelkolonie	—	—	—	—

Kultur Nr. 21.

Schleimig. Gramnegativ. K +++++. S +++++.

	Säure		Gas	
Laktose	—	5	—	5
Glukose	+	1	—	5
Saccharose	+	3	—	5
Galle:	1	2	3	4
	—	—	—	—

Kultur Nr. 22.

Schleimig. Gramnegativ. K +++++. S +++++.

	Säure		Gas	
Laktose	—	5	—	5
Glukose	+	1	—	5
Saccharose	+	2	—	5
Galle:	1	2	3	4
	—	—	—	—

Kultur Nr. 23.

Schleimig. Gramnegativ. K +++++. S +++++.

	Säure		Gas	
Laktose	+	1	+	2
Glukose	+	1	+	1
Saccharose	+	1	—	5
Galle:	1	2	3	4
	+	+	+	+

Die Ergebnisse der Gärungsreaktion und die Widerstandsfähigkeit gegenüber Galle ergänzen einander; im Widerspruch hierzu stehen die Resultate K. und S. Wir untersuchten den Charakter des Wachstums der jungen Kulturen auf Petri-Schalen mit neutralem Agar. Auf diesem Wege wurde leicht der ungleiche Charakter der Kolonien konstatiert. Die Kultur zeigte sich verunreinigt. Durch die Methode mikroskopischer Aussaat („Harpunieren“) nach Oerskov (Kopenhagen) wurde eine Kolonie, die aus einem Rhinosklerombazillus gezüchtet war, isoliert. Die auf diesem Wege erhaltene Kultur Nr. 15a besaß folgende Eigenschaften:

	Säure		Gas	
Laktose	—	5	—	5
Glukose	+	1	—	5
Saccharose	+	2	—	5
Galle:	1	2	3	4
	—	—	—	—

Kultur Nr. 24.

Schleimig. Gramnegativ. K —. S +++++.

	Säure		Gas	
Laktose	+	1	+	1
Glukose	+	1	+	1
Saccharose	+	1	—	5
Galle:	1	2	3	4
	+	+	+	+

Kultur Nr. 25.

Schleimig. Gramnegativ. K +++++. S +++++.

	Säure		Gas	
Laktose	—	5	—	5
Glukose	+	1	—	5
Saccharose	+	3	—	5
Galle:	1	2	3	4
Erstes Mal	—	—		
Zweites Mal	—	+	+	+

Kultur Nr. 26.

Schleimig. Gramnegativ. S +++++. K +++++.

	Säure		Gas	
Laktose	—	5	—	5
Glukose	+	1	—	5
Saccharose	+	3	—	5
Galle:	1	2	3	4
	—	—	—	—

Kultur Nr. 27.

Schleimig. Gramnegativ. K +++++. S +++++.

	Säure		Gas	
Laktose	—	5	—	5
Glukose	+	1	—	5
Saccharose	+	3	—	5
Galle:	1	2	3	
	+	—	—	

Kultur Nr. 28.

Schleimig. Gramnegativ. K nicht gestellt. S — ebenso.

	Säure		Gas	
Laktose	+	2	+	2
Glukose	+	1	+	1
Saccharose	+	1	—	5
Galle:	1	2	3	4
	+	+	+	+

Kultur Nr. 29.

Schleimig. Gramnegativ. K und S — nicht gestellt.

	Säure		Gas	
Laktose	±	2	±	2
Glukose	+	1	+	1
Saccharose	+	1	—	5
Galle:	1	2	3	4
	+	+	+	+

Kultur Nr. 30.

Schleimig. Gramnegativ. K + + + +. S + + + +.

	Säure		Gas	
Laktose	—	5	—	5
Glukose	+	1	—	5
Saccharose	+	2	—	5
Galle:	1	2	3	4
1. Mal	—	—		
2. Mal	—	+	+	+

Kultur Nr. 31.

Schleimig. Gramnegativ. K und S — nicht gestellt.

	Säure		Gas	
Laktose	—	5	—	5
Glukose	+	1	—	5
Saccharose	+	2	—	5
Galle:	1	2	3	4
	+	—	—	—

Kultur Nr. 32.

Schleimig. Gramnegativ. K —. S —.

	Säure		Gas	
Laktose	—	5	—	5
Glukose	—	5	—	5
Saccharose	—	5	—	5
Galle:	1	2	3	4
	+	+	+	+

Kultur Nr. 33.

Schleimig. Gramnegativ. K + + + +. S + + + +.

	Säure		Gas	
Laktose	—	5	—	5
Glukose	+	1	—	5
Saccharose	+	2	—	5
Galle:	1	2	3	4
	—	—	—	—

Kultur Nr. 34.

Glänzendes, fettes (nicht schleimiges) Wachstum. Gramnegativ. K —. S —.

	Säure		Gas	
Laktose	+	1	+	1
Glukose	+	1	+	1
Saccharose	—	5	—	5
Galle:	1	2	3	4
	+	+	+	+

Kultur Nr. 35.

Schleimig. Gramnegativ. S + + + +. K nicht gestellt.

	Säure		Gas	
Laktose	—	5	—	5
Glukose	+	1	—	5
Saccharose	+	2	—	5
Galle:	1	2	3	
	—	—	—	

Kultur Nr. 36.

Schleimig. Gramnegativ. K + + + +. S + + + +.

	Säure		Gas	
Laktose	—	5	—	5
Glukose	+	1	—	5
Saccharose	+	2	—	5
Galle:	1	2	3	4
	+	—	—	—

Kultur Nr. 37.

Schleimig. Gramnegativ. K —. S —.

	Säure		Gas	
Laktose	+	1	+	1
Glukose	+	1	—	5
Saccharose	+	1	—	5
Galle:	1	2	3	4
	+	+	+	+

Die Resultate unserer Untersuchungen über die Widerstandsfähigkeit der Schleimkapselkulturen gegenüber reiner Galle sind zur besseren Uebersicht in einer Tabelle zusammengefaßt. Da man nach den Gärungsbefunden auf Nährböden mit Laktose, Glukose und Saccharose nicht mit Gewißheit den Charakter dieser oder jener Schleimkapselbakterie beurteilen kann, haben wir mit „Sklerombazillus?“ bezeichnet, sobald das Resultat der Zersetzung (Säure und Gas) nicht die Möglichkeit der Zugehörigkeit zum Stamme Sklerombazillus ausschloß, und mit „Nicht Sklerom“, sobald eine solche Möglichkeit nach den Zersetzungsbefunden der Kohlenhydrate vollkommen auszuschließen war. (Siehe Tab. S. 319.)

Die erhaltenen Resultate sind folgender Art: 14 Schleimkulturen, deren Zugehörigkeit zum Frisch-Bazillus nach dem Gärungsvermögen gegenüber Kohlenhydraten unbedingt auszuschließen war, zeigten sich der Galle gegenüber als widerstandsfähig; 22 Schleimkulturen des „Sklerombazillus?“ zeigten sich der auflösenden Wirkung der Galle gegenüber nicht resistent; 3 Schleimkulturen, genau morphologisch und serologisch dieselben wie die vorliegenden 22, gaben kein einheitliches Resultat, d. h. in einigen Proben lösten sich die Bazillen auf, in anderen dagegen nicht. Zur größeren Klarheit können wir darauf hin-

Nr. der Kulturen	Klinische Diagnose der Kranken, von welchen die Kulturen gewonnen wurden	Kompl.-Reaktion des Serums beim Kranken mit sicherer Skleromkultur (S)	Kompl.-Reaktion der ausgeschiedenen Kultur mit sicherem Skleromserum	Charakter der Kultur nach der Zersetzung von 3 Zuckerarten	Widerstandsfähigkeit (+) resp. Widerstandslosigkeit (—) gegenüber Galle
1	Sklerom	++++	++++	Sklerombaz.?	—
2a	Unbekannt	—	—	?	+
2b	„	—	—	Nichtsklerom	+
3	„	.	++++	Sklerombaz.?	—
4	„	.	++++	„	—
5	„	.	++++	„	—
6	„	.	++++	„	—
7	Sklerom	++++	++++	„	—
8	„	++++	++++	„	—
9	Unbekannt	++++	—	Nichtsklerom	+
10	Sklerom	++++	++++	Sklerombaz.?	—
11	„	++++	++++	„	— u. +
12	„	++++	++++	„	—
13	„	++++	θ	„	—
14	Lues	θ	—	Nichtsklerom	+
15	Sklerom	++++	++++	„	+
15a	„	θ	++++	Sklerombaz.?	—
16	Ozaena?	—	—	Nichtsklerom	+
17	Unbekannt	θ	θ	„	+
18	Sklerom	++++	++++	Sklerombaz.?	—
19	Unbekannt	—	—	Nichtsklerom	+
20	Sklerom	++++	++++	Sklerombaz.?	—
21	„	++++	++++	„	—
22	„	++++	++++	„	—
23	„	++++	++++	Nichtsklerom	+
23a	„	θ	θ	Sklerombaz.?	—
24	Ozaena	++++	—	Nichtsklerom	+
25	Sklerom	++++	++++	Sklerombaz.?	— u. +
26	„	++++	++++	„	—
27	Unbekannt	++++	++++	„	—
28	Kultur Ozaenastäbchen (Mosk.)	θ	θ	Nichtsklerom	+
29	Kultur Friedlstäbch. (Mosk.)	θ	θ	„	+
30	Sklerom	++++	++++	Sklerombaz.?	— u. +
31	Unbekannt	θ	θ	„	—
32	Ozaena	—	—	Nichtsklerom	+
33	Sklerom	++++	++++	Sklerombaz.?	—
34	Ozaena	—	—	Nichtsklerom	+
35	„	++++	++++	Sklerombaz.?	—
36	Sklerom	++++	++++	„	—
37	Unbekannt	—	—	Nichtsklerom	+

weisen, daß, wie die weiteren Untersuchungen von einem von uns (Elbert) über die Systematik der Schleimkapselbakterien (im Laboratorium von Oerskov, Statens Serum Institut, Kopenhagen), zeigten, die ersten 14 Stämme sich unbedingt als Nicht-Skleromstämmen, die übrigen 25 Stämme hingegen als Kulturen des Frisch-Bazillus erwiesen haben. Alle Nicht-Skleromstämmen erwiesen sich also ohne Ausnahme widerstandsfähiger der Galle gegenüber als Rhinoskleromstäbchen.

Man muß noch den in der Tabelle unter 3 und 4 aufgeführten Befunden folgendes berücksichtigen: Die positive Komplementbindungsreaktion des Krankenserums mit sicherer Kultur des Rhinosklerombazillus spricht ohne Zweifel dafür, daß der betreffende Kranke nur an Rhinosklerom erkrankt ist, und es ist klar, daß man nach diesem Resultat allein nicht auf den Charakter

der isolierten Kultur schließen darf. Weiter darf man, sogar in dem Falle, wenn die unbekannte, aus dem Schleime des Kranken gewonnene Kultur mit sicherem Skleromserum positive Komplementbindungsreaktion gibt, nicht die Folgerung ziehen, daß es sich um eine Reinkultur des Frisch-Bazillus handelt. Wir haben öfters aus dem Schleime der Rhinoskleromkranken Kulturen isoliert, die sich bei weiterer Untersuchung auf Gärung, bei mikroskopischer Analyse des Charakters der Kolonie usw. als gemischte Kulturen von 2 oder 3 verschiedenen Schleimkapselbakterien (Frisch-Bazillus + Pneumobazillus, Frisch-Bazillus + Aërogenes, Frisch-Bazillus + Abel-Löwenberg-Stäbchen usw.) erwiesen.

Indem wir die Verschiedenheit der Wirkung der Galle einerseits auf die Frisch-Bazillen und andererseits auf andere Bazillen der Schleimkapselgruppe, die entsprechende Widerstandslosigkeit der ersteren und die Resistenz der letzteren bewiesen, bemühten wir uns des weiteren, mit Hilfe einer anderen Methodik die Bedingungen des Experimentes zu verfeinern. Da 3 unserer Skleromstämme sich unbeständig gegenüber der Einwirkung der Galle verhielten, wurden von uns feste Gallennährböden versucht, und zwar:

- 1) Ochsen-galle zur Hälfte mit 4proz. Agar (50 Proz. Galle).
- 2) 1 Teil Ochsen-galle + 2 Teile 3proz. Agar (33 Proz. Galle).
- 3) 1 Teil Ochsen-galle + 3 Teile 2½proz. Agar (25 Proz. Galle).

Die Methodik bestand darin, daß einige Tropfen einer Bouillonkultur auf der Oberfläche von 50proz., 33proz. und 25proz. Galleagar verrieben und die Schalen auf 24 Std. in den Brutschrank gestellt wurden. Nachstehend die Resultate unserer Beobachtungen:

Kulturen Nr.	Charakter	Galle-Agar		
	Art der Bakterien	50 Proz.	33 Proz.	25 Proz.
1, 3, 5, 6, 7, 10, 11, 12, 13, 15, 18, 20, 21, 25, 27, 30, 33, 36	Rhinosklerombazillen	—	+	+
9, 14, 16, 17, 19, 23, 28, 29, 32, 34, 37	Verschiedene Schleim- baz. (Ozaena, Aëro- genes, Fried- länder)	+	+	+

Wir untersuchten 19 (vorher bestimmte) Kulturen des Rhinoskleromstäbchens und 11 andere Schleimkapselmikroben. Wie aus der Tabelle ersichtlich, wies nicht eine Rhinoskleromkultur auf 50proz. Galleagar Wachstum auf, während alle 11 Nicht-Skleromstämme starkes, schleimiges Wachstum gaben. Nährböden mit geringerer Gallekonzentration waren unbrauchbar, um diese interessante Eigenschaft des Rhinosklerombazillus zu beweisen.

Aus unseren Untersuchungen können wir folgende Schlüsse ziehen:

- 1) Ochsen-galle hält das Wachstum des Rhinosklerombazillus in vitro auf.
- 2) Gegegenüber einer Reihe anderer Vertreter der Schleimkapselgruppe besitzt die Galle eine solche Wirkung nicht.
- 3) Bei der Bestimmung der Mikroben vorliegender Gruppe ist neben anderen Eigenschaften der Schleimkapselbakterien (morphologischen, serologischen und biochemischen) das von uns beschriebene Phänomen der Galle von differentialdiagnostischer Bedeutung.

Nachdruck verboten.

Ueber die Bedeutung der Milz bei der Spirochäteninfektion.

[Aus dem Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten zu Hamburg
(Direktor: Obermed.-Rat Prof. Dr. Nocht). Protozool. Abt. (Vorsteher:
Prof. Er. Reichenow).]

Von P. Regendanz.

Als wir gelegentlich anderer Untersuchungen in Brasilien¹⁾ bei einem entmilzten Opossum (*Didelphys didelphys*) eine Infektion des Blutes mit der *Spirochaeta didelphydis* fanden, untersuchten wir die Frage nach der Rolle der Milz bei Spirochäteninfektionen an diesem Tier, da es uns wichtig erschien, diese Frage durch Untersuchungen an einem Tier, das auch unter natürlichen Bedingungen mit dieser Spirochäte infiziert ist, zu klären.

Die Bedeutung der Milz für die Bildung der Antikörper bei der Infektion mit Spirochäten wurde schon verschiedentlich untersucht. Ueber diese Antikörper steht bisher fest, daß die im Verlauf der natürlichen und künstlichen Infektion mit Rekurrens- und Hühnerspirochäten nach dem Anfall auftretende Vernichtung fast aller oder aller im Blut befindlichen Spirochäten durch lytische Antikörper bewirkt wird. (Neufeld und Prowazek, Sergent, Foley, Gillot und Beguet, Manteufel). Für die erneute Vermehrung der Parasiten nach dem Anfall und das Auftreten von Relapsen bei der Infektion mit *Spir. rec.* wird meist eine im 1. Anfall von einer Zahl der Spirochäten erworbene Serumfestigkeit, gleich oder ähnlich der für Trypanosomen festgestellten, angenommen (Manteufel, Levaditi und Roché, Levaditi und Stanesco). Toyoda dagegen glaubt, durch seine Versuche bewiesen zu haben, daß die Serumfestigkeit der *Spir.* einen anderen Mechanismus als den der Trypanosomen habe, daß nämlich auch bei jedem Relaps Antikörper gegen den Ausgangsstamm gebildet werden. Er zieht die Rezeptorenpotenz zur Erklärung der Serumfestigkeit heran.

Das Auftreten einer Immunität von verschiedener Dauer nach dem Verschwinden der *Spir.* aus dem Blute ist allgemein bestätigt, ihre Dauer scheint von der Stärke der stattgehabten Infektion abhängig zu sein. Nach Manteufel sind die parasitiziden und immunisatorischen Substanzen des Blutserums dieselben.

Die bisherigen Ergebnisse der Untersuchungen über die Rolle der Milz für die Antikörperbildung bei Spirochäteninfektionen sind folgende: Sudakewitsch fand, daß entmilzte Affen der Infektion mit *Spir. rec.* erliegen, während normale Tiere diese Infektion überstehen. Diese Ergebnisse wurden jedoch zum Teil widerlegt durch Tictin, der feststellte, daß die entmilzten Affen zwar die Anfälle schwieriger überwinden als normale Tiere, daß sie jedoch nicht an der Infektion zugrunde gehen. Bemerkenswert ist in Tictins Mitteilung noch, daß die Immunität auch bei entmilzten Affen auftritt und andererseits eine schon bestehende nach Entmilzung nicht verschwindet. Tournade, der entmilzte Ratten mit *Spir. rec.* infizierte, fand, daß bei diesen die Infektion leichter als bei normalen Ratten erfolgt. Neuerdings hat Meleney seine Unter-

1) Die Untersuchungen wurden zum Teil im Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, ausgeführt. Für die gebotene Arbeitsmöglichkeit und Unterstützung sprechen wir auch an dieser Stelle dem Instituto unseren ergebensten Dank aus.

suchungen an mit Spir. rec. infizierten Eichhörnchen mitgeteilt. Es gelang ihm, Tiere nach Milzexstirpation sowohl leichter zu infizieren, als auch das Auftreten von Relapsen bei ihnen zu vermehren. Aus dem Laboratorium Kritschewskis liegen neuere Arbeiten (Kritschewski und Rubinstein, Lisgunowa und Butjagina) vor, in denen auch der Einfluß der Milzexstirpation bei mit Spir. duttoni infizierten Ratten und Mäusen mitgeteilt wird. Während von den normalen, infizierten Ratten und Mäusen nur ca. 4 Proz. starben, erlagen nach der Milzexstirpation sämtliche Ratten und 89 Proz. der Mäuse der Infektion. Sehr auffällig ist der gezogene Schluß, daß bei milzexstirpierten Mäusen die kompensatorischen Kräfte des Organismus die Funktionen der Milz schon nach 4mal 24 Std. zum Teil ersetzen können. Bezüglich des „katastrophalen“ Einflusses der Milzentfernung auf den Verlauf der Rekurrensinfektion bei den Ratten ist darauf hinzuweisen, daß die nach der Milzexstirpation gewöhnlich auftretende und oft zum Tode führende durch Bartonellen verursachte infektiöse Rattenanämie nicht berücksichtigt wurde, so daß diese Versuche nicht beweisend sind. Im übrigen wird von diesen Autoren auch der außerhalb der Milz gelegene Teil des retikuloendothelialen Systems als Schutzapparat bei der Infektion mit der Spir. rec. angesehen. Jungeblut, der Versuche an mit russischer Rekurrens infizierten Mäusen anstellte, fand, daß nach Blockade des R. E. S. oder Entmilzung die Mortalität 62,5 Proz. gegen 11,1 Proz. bei den Kontrollen betrug, und daß Mäuse, die sowohl entmilzt als blockiert waren, in 100 Proz. der Fälle starben.

An mit Spir. gallin. infizierten entmilzten Hühnern stellten Launoy und Lévy Brühl Untersuchungen an. Sie fanden folgende Unterschiede im Verlauf der Infektion gegenüber normalen Hühnern: früheres Erscheinen der Spir. im Blute, deutliche Erhöhung ihrer Zahl während der „Septikämie“, Verlauf der Krise in zwei Perioden anstatt in einer (Agglomeration), Verlängerung der Dauer der „Septikämie“, dabei stets einen klinisch milderen Verlauf. Sie erklären den Gegensatz zwischen dem klinischen und Blutbefund so, daß infolge des Fehlens der Milz die Vernichtung der Spir. nicht so massig erfolge wie sonst und daher die toxischen Substanzen, die bei dem Zerfall der Spir. frei werden, nicht auf einmal, sondern allmählicher auf den Organismus einwirken. Immunität stellte sich bei den entmilzten Hühnern wie bei den Kontrolltieren ein.

Alle Untersucher sprechen demnach der Milz eine Schutzrolle bei der Spirochäteninfektion zu, behaupten jedoch, daß auch andere Organe diese Eigenschaft besitzen.

Die Spir. didelphydis wurde von Vianna, Figueiredo und Cruz zuerst gefunden. Der von diesen gegebenen Beschreibung füge ich unsere Feststellungen bei. Die Spirochäte ist durchschnittlich 14 (9—24) μ lang, hat entsprechend ihrer Länge 3—6 (—7) Windungen. Nach Giemsa-Färbung findet man in ihr oft dunkler und heller gefärbte Abschnitte. In frischen Präparaten ist die Spirochäte nur schwer sichtbar, aber leicht an den durch sie in Schwingungen gesetzten roten Blutkörperchen nachweisbar. Auf Ratten ist die Spirochäte übertragbar, doch treten die Spirochäten bei diesen nur in geringer Zahl und für kurze Zeit (1—2 Tage) auf. Von der Ratte gelingt eine Rückübertragung auf das Opossum, mit geringer Abschwächung der Virulenz für dieses (Op. 2 und 16). Auf Beutelratten (*Metachirus Opossum*) ist die Spirochäte leichter übertragbar, doch treten bei diesem Tier auch nach Entmilzung die Spirochäten nicht ganz so zahlreich wie beim Opossum auf. Die Beutelratten sind gegen diese Spirochäteninfektion anscheinend sehr empfindlich. Auf Hühner konnten wir die Spirochäte nicht übertragen.

Die Milzexstirpation beim Opossum bereitet keine größeren Schwierigkeiten, doch starb eine größere Zahl der Tiere an Operationsfolgen, wie Nachblutungen, Peritonitis, Hauteiterung usw. und wurde für die vorliegenden Untersuchungen ausgeschaltet. Alle verendeten Tiere wurden obduziert; ergaben sich andere Todesursachen, so wurden diese Tiere ebenfalls in der Tabelle nicht verwertet. Die Ueberimpfung erfolgte durch subkutane, intraperitoneale oder intravenöse Einspritzung von etwa 1 Tropfen spirochätenhaltigen Schwanzblutes in phys. NaCl-Lösung. Zur intravenösen Injektion wurde die Vena femoralis freigelegt.

Klinische Symptome waren bei dem infizierten Opossum nur dann vorhanden, wenn große Mengen von Spirochäten sich im Blute befanden; es bestand dann allgemeine Schwäche und Mattigkeit bei fehlender oder stark ermäßigter Freßlust. Ueber Temperatur wurde keine Untersuchungen angestellt.

Das Blutbild der entmilzten Tiere war stark verändert, es bestanden Anisozytose, Poikilozytose, Polychromasie, basophile Punktierung und Auftreten kernhaltiger roter Blutkörperchen. Diese Veränderungen der roten Blutkörperchen traten wenige Tage nach der Entmilzung und Infektion auf und hielten während der ganzen Dauer der Infektion an. Bei 3 dieser entmilzten Tiere fanden wir auch bartonellenähnliche Einschlüsse in den roten Blutkörperchen, bei zweien von diesen nur vorübergehend. Auch bei den normalen Tieren traten nach der Infektion mit spirochätenhaltigem Blut — sowohl bei positivem als auch noch negativem Spirochätenbefund — regelmäßig Poikilozytose, Polychromasie und basophile Punktierung auf, und zwar etwas später als bei den entmilzten Tieren, ca. 6 Tage nach der Ueberimpfung, und hielten auch nach dem Verschwinden der Spirochäten noch kurze Zeit an. Kernhaltige rote Blutkörperchen fanden wir bei 4 der nicht entmilzten Opossum im Verlauf der Infektion. Auf diese Blutbefunde kommen wir weiter unten zurück. Launoy und Lévy Brühl fanden bei der Hühnerspirochätose an entmilzten Hühnern starke Anämie mit schneller und völliger Regeneration, dagegen die zyklischen Veränderungen der weißen Blutkörperchen wie bei normalen Tieren.

Wie aus der Tabelle hervorgeht, waren die Spirochäten bei den normalen und entmilzten Opossum im allgemeinen 2—4 Tage nach der Ueberimpfung mikroskopisch im Blute nachweisbar, bei intravenöser Infektion etwas früher als bei subkutaner oder intraperitonealer. (Untersuchung im nach Giemsa gefärbtem Ausstrich- und Dicken Tropfenpräparat). Bei den nicht entmilzten Tieren fand dann eine allmähliche Zunahme der Spir. statt, worauf ihre Zahl meist wieder geringer wurde, dann wieder anwuchs und erneut abnahm, womit die Spirochäten endgültig aus dem Blute verschwanden. Bei 2 dieser normalen Tiere erfolgte jedoch die Verminderung der Spir. nicht, die Tiere verendeten bei starkem Spirochätengehalt des Blutes. Unter den entmilzten Opossum war der Verlauf ein ähnlicher bei Nr. 11, 12 und 15, einer Periode der Vermehrung folgte eine, zwar kurz dauernde, Abnahme der Zahl der Spirochäten, worauf wieder ein Ansteigen der Zahl statthatte, jedoch ohne daß eine erneute Verminderung erfolgte. Bei den anderen entmilzten Tieren aber verlief die Infektion sofort so, daß es überhaupt nicht erst zu einem Abfall der Spirochätenzahl kam, die Tiere verendeten in wenigen Tagen bei starkem Spirochätengehalt des Blutes. Knäuelbildung der Spirochäten wurde des öfteren und in verschiedenen Stadien der Infektion beobachtet.

Während also von 9 nicht entmilzten Opossum nur zwei 12—15 Tage nach der Ueberimpfung infolge der Spirochätosis starben, erlagen die 8 entmilzten Tiere sämtlich der Infektion, und zwar innerhalb von 7—15 Tagen.

	Infektions- stärke des über- tragenen Blutes	Art der Ueber- impfung	Spirochäten im Blut											
			0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	++++	ip.	—	?	(+)	+	—	(+)	+	+	(+)	+	+	++++
2	++	ip. sk.	—	?	—	?	—	—	(+)	(+)	—	—	—	—
3	++	ip.	—	—	—	—	—	(+)	+	+	+	+	++++	++++
4	++++	ip.	—	?	+	+	++	++	+	+	++	+	—	—
5	++++	ip. sk.	—	?	(+)	(+)	(+)	?	+	+	++	+	++	++
6	++++	dgl.	—	?	—	—	(+)	?	(+)	(+)	+	++	+	(+)
7	++++	„	—	?	—	—	(+)	(+)	(+)	(+)	+	++	+	(+)
8	+ ¹⁾	„	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	(+)	(+)
9	+	„	—	?	—	—	(+)	(+)	(+)	?	+	(+)	(+)	?
10	++	„	— ²⁾	?	—	—	(+)	—	?	—	—	(+)	—	—

Entmilzte

11	spontan infiziert ³⁾	?	?	?	?	?	?	?	+	+++	++++	+	+
12	++++	iv.	—	+	+	(+)	(+)	—*	?	++++	++++	++++	+++
13	++	ip.	—	—	—	—	?	++++	++++	++++	++++	++++	++
14	++++	iv.	—	?	+	(+)	—	+	+	+	+	+	+
15	++++	"	—*	?	+	+	—	(+)	—	—	?	(+)	(+)
16	++	ip. sk.	—	?	—	?	—*	(+)	(+)	(+)	++++	+	+
17	++++	ip. sk.	—*	—	—	—	(+)	+	++++	++++	++++	+	+
18	+	ip. sk.	—	?	—	—	(+)	—	+	+	+	(+)*	?

- * = Milzexstirpation
 ? = nicht untersucht
 (+) = einzelne Spir. im Dicken Tropfen
 +) = einzelne Spir. im Ausstrich
 ++ = 1 Spir. auf 3 Gesichtsfelder
 +++ = 1 Spir. auf 1 Gesichtsfeld
 ++++ = 2—3 Spir. auf 1 Gesichtsfeld
 +++++ = zahlreiche Spir. im Gesichtsfeld

Objektiv Leitz $\frac{1}{12}$ Oelimmersion
Okular Leitz Nr. 1

Bevor wir zur Erläuterung dieses Befundes übergehen, weisen wir noch auf einige aus der Tabelle ersichtlichen Feststellungen hin. Op. 10 wurde mit 1 cem aus Op. 2 gewonnenen Immuneserum behandelt, die Infektion verlief bei diesem Tier sehr milde. Eine versuchte Neuinfektion von Op. 4 und 6, und zwar 17 bzw. 9 Tage nach dem Verschwinden der Spir. aus dem Blute gelang nicht, es bestand also hier eine Immunität. Schon das Auffinden der Spir. des Op. war uns an einem entmilzten Tiere (Nr. 11) gelungen. Wir entmilzten daher Op. 4, 5 und 14, nachdem wir während mehrerer Tage in ihrem Blute Spirochäten mikroskopisch nicht mehr gefunden hatten, um eine eventuell noch bestehende latente Infektion zum Ausbruch zu bringen, was bei Op. 14 von Erfolg war. Bei diesem waren während 5 Tagen keine Spir. mehr im Blut gefunden worden, zwei Tage nach der Milzexstirpation traten sie im Blute auf und vermehrten sich rasch.

Es ergibt sich aus den oben mitgeteilten Versuchen, daß beim Opossum nach Entfernung der Milz die Spir. did. sich im Blute in kurzer Zeit stets so stark vermehrt, daß der Tod dieser Tiere erfolgt, während die Antikörper bei den nicht entmilzten Opossum gewöhnlich die Spir. bald vernichten und danach eine Immunität bewirken. Ferner, daß es bei latent infizierten Tieren durch die Milzexstirpation gelingt, wie auch bei Protozoeninfektionen (Tryp. lewisi, Piroplasma usw.), und wie wir es kürzlich wieder an der Beutelratte (Regen-danz und Kikuth) bei der Infektion mit einer Nuttallia-Art zeigen konnten, eine Vermehrung der Parasiten im Blut erneut hervorzurufen.

Opossum

... Tage nach Infektion

12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
+++ — †	++++ (+)	++++ (+)	† ++	(+)	(+)	—	—	—	—	—	—	—	— ⁴⁾
++ (+)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—*	—	?	— ⁵⁾
++ (+)	++	?	++++	—	—	?	—	—	—	—	—	—	—
++ (+)	++	?	—	—	—	?	—	—	—	—	—	—	—
—	?	++++	++++	++++	++	++	++	?	(+)	—	—	—	—
—	(+)	(+)	—	—	—	—	?	—	—	—	—	—	—
(+)	—	?	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Opossum

++	++++	+++	+++	†									
++	++++	++++	†	†									
++++ ? 6)	† ? 6)	—	—	—	—	—*	—	+	++	++++	++++	†	
++++	++++	†											
++++	++++	++++	†										

sk. = subkutan

ip. = intraperitoneal

iv. = intravenös

1) Spirochätenhaltiges Blut in NaCl nach 3 $\frac{1}{2}$ stündigem Stehenlassen injiziert.

2) Gleichzeitig Serum aus Op. 2 injiziert.

3) 11 Tage vorher entmilzt.

4) Getötet zur Serumgewinnung.

5) Bleibt negativ bei Neuinfektion. 6) Entlaufen.

Es entsteht nun die Frage, ob aus den Versuchen bewiesen ist, daß die Milz allein die Bildungsstätte der Antikörper bei der Spirochätosis ist. Bei 3 der entmilzten Opossum (11, 12 und 15) fanden wir — wie gesagt — nach dem 1. Anstieg der Spirochätenzahl eine Verminderung, die allerdings nur kurz anhält. Zur Erklärung hierfür kann man nach aus anderen Spir.-Infektionen gewonnenen Kenntnissen eine durch Auftreten der Antikörper bedingte Serumfestigkeit der Spirochäten annehmen, damit aber auch die Ansicht stützen, daß die Milz nicht der alleinige Ort der Antikörperbildung sei. Ferner haben die oben mitgeteilten Ergebnisse der anderen Autoren aus Tierversuchen mit Spir. rec. Beweise für die Bedeutung auch anderer Organe bei der Bildung der Antikörper erbracht. Doch ist zu bedenken, daß es sich dort um Versuche mit bei den betr. Tiere nicht natürlicherweise vorkommenden Spirochäten gehandelt hat, während für unsere Versuche dieser Einwand nicht gemacht werden kann, was für uns auch der Grund gewesen war, die vorliegenden Untersuchungen anzustellen. Die Versuche mit Hühnerspirochäten an entmilzten Hühnern von Launoy und Lévy Brühl ergaben, daß die Milz bei der Antikörperbildung nur einen gewissen Anteil hat, doch halten wir einen Vergleich der Milzfunktion bei Säugetieren und Vögeln nicht ohne weiteres für angängig. Weiter könnte der Einwand gemacht werden, daß die Operation als solche die allgemeine Resistenz der Tiere gegenüber Infektionen stark herabgesetzt habe, so daß der Körper nicht in ausreichender Weise Antikörper bilden konnte. Doch lag bei den entmilzten Opossum zwischen Operation und Tod ein genügend langer

Zeitraum (z. B. bei Nr. 11 26 Tage), daß direkte Operationsschädigungen nicht mehr in Betracht kamen. Außerdem haben wir alle entmilzten Tiere, bei denen durch die Operation sichtbare Körperschädigungen eintraten, für vorliegende Versuche nicht verwertet. Weiter könnte aus der starken Veränderung des Blutbildes bei den entmilzten Tieren gefolgert werden, daß diese, ebenfalls durch Schädigung der Milz veranlaßt, neben der Spirochäteninfektion als wesentliche Ursache des Todes der Tiere anzusehen sei. Dies wäre richtig, wenn nicht auch bei den nicht entmilzten infizierten Opossum diese Blutveränderungen aufgetreten wären. Wie aber schon erwähnt, traten diese in derselben Form (außer bartonellenähnlichen Einschlüssen) ebenfalls bei den normalen infizierten Tieren auf, jedoch entsprechend der geringeren Stärke der Infektion dieser meist in geringerem Ausmaße. Die stark infizierten normalen Tiere 1 und 3 hatten eine große Zahl kernhaltiger roter Blutkörperchen neben polychomatischen und basophilpunktierten, auch bei Op. 2 und 4 wurden diese gefunden. Wir glauben daher, daß die Blutveränderungen im wesentlichen durch die Spirochäteninfektion bedingt sind. Daß die Milzexstirpation beim Opossum keinen starken Einfluß auf die Blutveränderung, wie z. B. bei Ratten hat, zeigten uns auch Kontrollversuche, in denen wir nach Entmilzung immer nur geringe Veränderungen der roten Blutkörperchen fanden. Daß man ferner durch die Milzexstirpation eine latente Infektion wieder zum Ausbruch bringen konnte, weist andererseits eher darauf hin, daß die Antikörper, die die Vermehrung der Parasiten niederhalten, nur von der Milz gebildet werden.

Bei Berücksichtigung aller dieser Einwände läßt sich unseres Erachtens aus den Versuchen schließen, daß tatsächlich der Milz für die Antikörperbildung bei der Spirochätosis die wesentliche, fast ausschließliche Rolle zufällt, eine noch wichtigere, als es die bisherigen Untersucher angenommen haben.

An dieser Stelle wollen wir noch auf eine andere Beobachtung hinweisen. Ein kleiner Teil der entmilzten Tiere war mit der in roten Blutkörperchen schmarotzenden *Haemogregarina didelphydis* infiziert, deren Vermehrung (Schizogonie) hauptsächlich im Pankreas stattfindet. Die Entmilzung bewirkte kein vermehrtes Auftreten dieser Parasiten im Blut, selbst nicht bei Tieren, in deren Pankreas noch zahlreiche Schizogonieförmungen gefunden wurden. Es scheint also, daß diese Parasiten von denen nur einer Art (*Haemogregarina ratt*i) eine pathogene Wirkung zugeschrieben wird, keine Antikörperbildung der Milz hervorrufen. Dieselbe Beobachtung machten wir auch an mit der *Haemogregarina metachiri* infizierten Beutelnattern.

Was den Ort der Vermehrung der *Spir. rec.* betrifft, so hat Aravantinos für die menschliche *Rekurrens* nachgewiesen, daß in der Milz keine Vermehrung der Spirochäten stattfindet. Wir untersuchten alle während der Inkubation oder im Intervall entnommenen Milzen, ohne in ihnen *Spir.* nachweisen zu können. Bei den infolge der Infektion verendeten Tieren untersuchten wir stets die Organe mikroskopisch auf ihren Spirochätengehalt, und zwar Knochenmark, Leber, Lunge, Niere, Gehirn, Herzmuskel und Lymphdrüsen und fanden stets nur eine dem Blutgehalt der Organe und der Zahl der im peripheren Blut befindlichen Spirochäten entsprechende Menge, ebenso wie Rabinowitsch bei der *Rekurrens* des Menschen eine ähnliche Feststellung machte. Bei den im Inkubationsstadium bzw. Intervall verendeten Tieren fanden wir mikroskopisch auch niemals in den Organen Spirochäten, wenn wir sie nicht gleichzeitig im Blut hatten nachweisen können. Wir glauben damit annehmen zu können, daß sich die *Spir. did.* nicht in den Organen, sondern nur im Blute vermehren. Daß sie dort in der Inkubation und im Intervall mikroskopisch nicht immer

nachweisbar sind, dürfte nur auf ihrer geringen Zahl während dieser Perioden beruhen.

Literatur.

- 1) Aravantinos, Annal. de l'Inst. Past. T. 33. 1919. p. 425. — 2) Jungeblut, Ztschr. f. Hyg. Bd. 107. 1927. S. 357. — 3) Kritschewski u. Rubinstein, Ztschr. f. Immunitätsf., Bd. 51. 1927. S. 27. — 4) Kritschewski u. Shapiro, Ebenda. Bd. 56. S. 1928. S. 308. — 5) Launoy u. Lévy Brühl, C. r. soc. de Biol. T. 76. 1914. p. 298. — 6) Levaditi u. Roché, Ebenda. T. 62. 1907. p. 815. — 7) Levaditi u. Stanesco, Bull. Soc. de Pathol. Exot. T. 3. 1910. p. 353. — 8) Lisgunowa u. Butjagina, Ztschr. f. Immunitätsf. Bd. 51. 1927. S. 56. — 9) Manteufel, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. 27. 1908. S. 326. — 10) Ders., Ebenda. Bd. 28. 1908. S. 172. — 11) Ders., Ebenda. Bd. 29. 1908. S. 337. — 12) Meleney, Abhandl. a. d. Geb. d. Auslandskunde, Reihe D. Medizin. Bd. 2. 1927 (Festschrift Nocht). S. 328. — 13) Neufeld u. Prowazek, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. 25. 1907. S. 494. — 14) Rabinowitsch, Münch. med. Wochenschr. 1908. Nr. 20. S. 1067. — 15) Regendanz u. Kikuth, C. r. Soc. de Biol. T. 98. 1928. p. 1567. — 15a) Regendanz und Kikuth, Arch. f. Schiffs- u. Tropenkrankh. Bd. 32. 1928. — 16) Sergeant, Foley, Gillot u. Béguet, Ebenda. T. 77. 1914. p. 226. — 17) Sudakewitsch (zit. nach Tictin), Ann. de l'Inst. Past. 1891. p. 545. — 18) Tictin, Centralbl. f. Bakt. Bd. 15. 1894. S. 840. — 19) Ders., Ebenda. Bd. 21. 1897. S. 179. — 20) Tournade, C. r. Soc. de Biol. T. 71. 1911. p. 267. — 21) Toyoda, The Kitasato Arch. of experim. Med. Vol. 4. 1920. p. 40. Okt. 1920. — 22) Vianna, Figueiredo u. Cruz, Brazil. Medico. Vol. 26. 1912. p. 439.

Nachdruck verboten.

Zoologische Beiträge zum Surraproblem.

XXII. Uebertragungsversuche mit *Anopheles fuliginosus* Gil.

[Aus der parasitologischen Abteilung des Tierärztlichen Instituts zu Buitenzorg (Java). (Direktor: Dr. C. Bubberman).]

Von Dr. Otto Nieschulz.

Mit Mücken wurden bisher nur recht wenige Surraübertragungsversuche gemacht, und zwar, soweit ich aus der mir hier zur Verfügung stehenden Literatur sehen kann, nur von Leese (1909), Bauche und Bernard (1913), Kelser (1927) und von Nieschulz (1927). Positive Resultate hat hierbei nur Kelser auf den Philippinen mit *Stegomyia fasciata* gehabt. Bei direkte Uebertragung gelangen 2 von einer nicht näher angegebenen Anzahl von Versuchen, in denen 6 bzw. 10 Exemplare an 6—8 Tagen mehrmals täglich abwechselnd auf einer infizierten Ratte und nach möglichst kurzer Unterbrechung auf einer gesunden Ratte zum Saugen gebracht wurden. Die Uebertragungskapazität der Mücken ist leider aus seinen Angaben nicht zu ersehen.

Inzwischen ist es mir gelungen, in Fortsetzung meiner bisherigen Surraversuche auch mit Mücken positive Resultate zu erhalten. Hier sollen zunächst die Experimente mit *Anopheles* (*Nyssorhynchus*) *fuliginosus* Giles beschrieben werden, die inzwischen abgeschlossen werden mußten, da mit dem Beginn der Trockenzeit von dieser Art kein genügendes Material mehr erhalten werden kann.

A. fuliginosus scheint ziemlich zoophil zu sein und, soweit *Anopheles*-Arten überhaupt als Surraüberträger in Betracht zu ziehen sind, noch am ersten hierfür in Frage zu kommen. Hier in Buitenzorg ist sie in den Viehställen bei weitem die vorherrschende Art. So gehörten im Dezember 1925 von 250 in

einem der Ställe unseres Instituts gefangenen Anophelinen 72,4 Proz. zu *A. fuliginosus*, 24,8 Proz. zu *A. (Myzomyia) vaga* Dön. und die übrigen 2,8 Proz. zu *A. (Cellia) kochii* Dön., *A. (Myzorhynchus) barbirostris* v. d. Wlp., *A. (Nyssorhynchus) maculatus* Theob. und *A. (Myzorhynchus) sinensis* Wied. Auch im letzten und vorletzten Jahr war das Verhältnis ein ähnliches¹⁾.

Material und Technik.

Die für die Versuche benutzten Anophelinen wurden in einem der Ställe für Serumtiere unseres Instituts gefangen und erst mindestens 24 Std. in Käfigen bewahrt, ehe sie für die Experimente benutzt wurden, so daß eine eventuelle (sehr unwahrscheinliche) natürliche Infektion sicher abgeklungen war und fehlerhafte Ergebnisse durch die Benutzung von wilden Mücken nicht gefürchtet werden brauchten.

Experimentiert wurde wie gewöhnlich nur mit einem Exemplar gleichzeitig, um Saugakt und Intervall genau verfolgen zu können. In kleinen, an einem Ende offenen Gläsern von 1½ cm Durchmesser wurden die Mücken auf die Versuchstiere gesetzt und waren ziemlich leicht zum Saugen zu bringen.

Als Surraträger und zu infizierende Versuchstiere wurden nur Pferde benutzt, abgesehen von einigen Versuchen, in denen aus besonderen Gründen Meer-schweinchen gebraucht wurden. Der Surrastamm war aus einem natürlich infizierten Büffel isoliert und stets von Pferd auf Pferd weitergeführt worden. Es wurde nur experimentiert, wenn das Blut der Surraträger wirklich stark positiv war. Von jeder Mücke wurde nach Ablauf der Versuche der Darminhalt mikroskopisch auf das Vorhandensein von Trypanosomen kontrolliert, um ganz sicher zu sein, daß die Mücken sich auf dem Surraträger infiziert hatten. Irrtümer kamen praktisch nie vor.

Eigene Versuche.

Es wurden im ganzen 8 Versuche mit etwa 580 Exemplaren bei direkter Uebertragung (Intervall nur selten höher als 1 Min., meist viel kürzer) gemacht²⁾.

Es wurden zunächst 4 Uebertragungsversuche von Pferd auf Pferd mit zusammen 500 Exemplaren angestellt.

Der 1. Versuch (Exp. 1, Tab. I) mit 100 Exemplaren war negativ. Das Intervall betrug hierbei 5—140 Sek., und zwar 17×5—10 Sek., 28×15—20, 20×25—30, 20×35—60 Sek. und 15× über 1 Min. (Max. 2 Min. 20 Sek.), der Saugakt auf den Surrapferden ½—2½ (meist 1—1½ Min.) und auf dem gesunden Pferd 1—6½ (meist 1½—3) Min.

Tabelle I.

Exp. 1 (S. 306)	Pferd 744.	100	Exempl. von	2. 11.	—21. 12. 27	Negativ	11. 1. 28
" 2 (S. 454)	" 815.	200	" "	21. 12.	27— 5. 3. 28	Positiv	6. 3. 28
" 3 (S. 521)	" 836.	100	" "	" "	5.—15. 3. 28	"	24. 3. 28
" 4 (S. 525)	" 839.	100	" "	" "	15.—22. 3. 28	Negativ	12. 4. 28

Uebertragungsversuche mit *A. fuliginosus* bei direkter Uebertragung von Pferd auf Pferd.

1) *A. fuliginosus* kommt in den Ställen unseres Instituts beinahe ausschließlich in der Regenzeit vor. Die optimalen Monate sind Dezember bis März. Im Oktober, November und April ist die Zahl erheblich geringer, in den übrigen Monaten kommen höchstens vereinzelte Exemplare zum Vorschein.

2) Von Versuchen mit längeren Intervallen mußte abgesehen werden, da nach Abschluß der direkten Versuche die Anopheles-Saison abgelaufen war und kein genügendes Material für weitere Experimente erhalten werden konnte.

Im 2. Versuch (Exp. 2, Tab. I) gelang die Uebertragung mit 200 Exemplaren. Die ersten Trypanosomen traten 1 Tag nach dem Saugen der letzten Mücken im Blut des Versuchspferdes auf, so daß in Wirklichkeit zur Erzielung der Infektion weniger als 200 Exemplare nötig gewesen sind, und zwar, wenn wir eine normale Inkubationszeit für Pferde von 8—12 Tagen annehmen, 179—187 (vergl. Tab. II). Das Intervall war in diesen Versuch 114×5 —10 Sek., 40×15 —20, 9×25 —30, 24×35 —60 Sek. und 13mal über 1 Min. (Max. 110 Sek.). Der Saugakt auf den Surrapferden betrug $\frac{1}{2}$ —3 (meist 1—2 Min., auf dem zu infizierenden Pferd 1—4 (meist 2—3) Min.

Tabelle II.

21. 12. 27	10 Exempl.	31. 1. 28	9 Exempl.
22. 12. 27	8	2. 2. 28	7
24. 12. 27	5	4. 2. 28	2
27. 12. 27	3	11. 2. 28	5
28. 12. 27	8	13. 2. 28	3
2. 1. 28	9	16. 2. 28	17
4. 1. 28	11	21. 2. 28	6
5. 1. 28	18	22. 2. 28	8
13. 1. 28	15	23. 2. 28	4
24. 1. 28	5	24. 2. 28	13
29. 1. 28	4	25. 2. 28	8
30. 1. 28	9	5. 3. 28	13

Uebertragungsversuch (Exp. 2) von Surrapferd auf Pferd 815 mit 200 *A. fuliginosus* bei direkter Uebertragung. Resultat positiv am 6. 3. 28.

Der 3. Versuch (Exp. 3, Tab. I), zu dem 100 Exemplare gebraucht wurden, verlief ebenfalls positiv. Das Versuchspferd wurde 9 Tage nach dem Saugen der letzten Mücken positiv, so daß die Infektion durch die beiden letzten Gruppen von Exemplaren, wahrscheinlich erst durch die letzte Gruppe erfolgte (vgl. Tab. III). Das Intervall betrug 81×5 —10 Sek. 17×15 —20 und $2 \times$ bis zu 25 Sek., der Saugakt auf den Surrapferden 1 — $5\frac{1}{2}$ (meist 2 — $2\frac{1}{2}$) Min., auf dem gesunden Pferd 1 — $3\frac{1}{2}$ (meist $2\frac{1}{2}$ —3) Min.

Tabelle III.

5. 3. 28	12 Exempl.	8. 3. 28	10 Exempl.
6. 3. 28	8	13. 3. 28	26
7. 3. 28	14	15. 3. 28	30

Uebertragungsversuch (Exp. 3) von Surrapferd auf Pferd 836 mit 100 *A. fuliginosus* bei direkter Uebertragung. Resultat positiv am 24. 3. 28.

Der letzte Uebertragungsversuch von Pferd auf Pferd mit 100 Exemplaren war dagegen wieder negativ (Exp. 4, Tab. I). Das Intervall betrug 55×5 —10 Sek., 40×15 —20 und 5×25 Sek., der Saugakt auf den Surrapferden 1 — $2\frac{1}{2}$ (meist $1\frac{1}{2}$ —2) Min., auf dem gesunden Pferd $1\frac{1}{2}$ —4 (meist 2—3) Min.

Anschließend an diese Experimente wurden noch 4 Versuche mit Meerschweinchen als Surraträger und zu infizierende Versuchstiere gemacht. In 3 Versuchen wurden je 25 *A. fuliginosus* bei direkter Uebertragung zum Saugen gebracht, in dem letzten nur 12 (Exp. 5—7, Tab. IV). Eine Uebertragung gelang nicht. Das Intervall betrug hierbei 67×5 —10 Sek., 14×15 —20, 3×25 —30 und 3×40 —65 Sek., der Saugakt auf den Surra-Meerschweinchen $\frac{1}{2}$ — $2\frac{1}{2}$ (meist etwa 2) Min., auf den zu infizierenden Meerschweinchen 1 — $3\frac{1}{2}$ (meist $2\frac{1}{2}$ —3) Min.

Tabelle IV.

Exp. 5 (S. 460)	Meerschw.	238.	25	Exempl. am	30. 12. 27—9. 1. 28	Negativ	9. 3. 28
„ 6 (S. 530)	„	550.	25	„	„	7. 4. 28	„ 31. 5. 28
„ 7 (S. 531)	„	551.	25	„	„	7. 4. 28	„ 8. 6. 28
„ 8 (S. 532)	„	560.	12	„	„	13. 4. 28	„ 13. 6. 28

Uebertragungsversuche mit *A. fuliginosus* bei direkter Uebertragung von Pferd auf Meerschweinchen.

Beurteilung der Ergebnisse.

A. fuliginosus kann also bei sehr kurzen Intervallen die Surra mechanisch übertragen. Mit 500 Exemplaren wurden bei Versuchen mit Pferden 2 positive Resultate erzielt, die Uebertragungskapazität würde demnach durchschnittlich bei etwa 1 auf 250 liegen.

Daß auch in der Natur, vereinzelt wenigstens, Surraübertragungen durch Mücken vorkommen, halte ich bei der großen Masse der Mücken, die auf den Haustieren Gelegenheit haben, Blut zu saugen und bei der Hartnäckigkeit mit der sie häufig versuchen, einen unterbrochenen Saugakt fortzusetzen, für wahrscheinlich, wenn sie auch wohl in der Regel einen einmal begonnenen Saugakt ungestört vollenden werden. Im Vergleich mit den Tabaniden werden sie aber, auch wegen der weit geringeren Uebertragungskapazität, höchstens eine sehr untergeordnete Rolle spielen¹⁾.

Beachtenswert ist hierbei noch ein Vergleich der Uebertragungskapazitäten von *A. fuliginosus* und *Stomoxys calcitrans*. Mit 700 *S. calcitrans* konnte bei direkter Uebertragung von Pferd auf Pferd kein positives Resultat erzielt werden, dagegen waren von 5 Versuchen mit je 10 Exemplaren von Meerschweinchen auf Meerschweinchen 2 positiv. In Versuchen von Pferd auf Pferd ist *A. fuliginosus* also, eigentlich wider Erwarten, der bessere Ueberträger, während bei Versuchen mit kleinen Laboratoriumstieren *Stomoxys* sich überlegen zeigt. Bei *A. fuliginosus* scheint, soweit die geringe Zahl von Versuchen ein Urteil zuläßt, die Benutzung kleiner Versuchstiere das Uebertragungsergebnis nicht oder auf jeden Fall nicht in demselben auffallenden Maße zu begünstigen wie bei *Stomoxys*²⁾.

Buitenzorg, Mitte Juni 1928.

Literaturübersicht.

Bauche, J. u. Bernard, N., Notes sur le surra d'Indo-Chine à Hué. (Bull. Soc. Path. exot. T. 6. 1913. p. 690—693). — Kelser, R. A., Transmission of surra among the animals of the equine species. (Philipp. Journ. of Sci. Vol. 34. 1927. p. 115—141). — Leese, A. S., Experiments regarding the natural transmission of Surra carried out at Mohand in 1908. (Journ. trop. vet. Sci. Vol. 4. 1909. p. 107—132). — Mitzmain, M. B., Collected studies on the insect transmission of *Trypanosoma evansi*. (Treasury Departm. U. S. Publ. Health Serv. Hyg. Bull. 1914. Nr. 94. p. 6—39). — Nieschulz, O., Zoölogische bijdragen tot het surraprobleem. XIX. Overbrengingsproeven met *Stomoxys*, *Lyperosia*, *Musca* en *Stegomyia* Nederl. (Ind. Blad. v. Diergeneeskd. Vol. 39. 1927. p. 371—390. Sonderabdr. als Veeartsenijk. Mededeel. Nr. 64).

1) Erwähnt sei hierbei noch, daß neuerdings auch mit einer anderen Mückenart, *Armigeres obturbans*, ein positives Ergebnis erhalten werden konnte, doch sind diese Versuche noch nicht abgeschlossen.

2) Bei Milzbrandübertragungsversuchen mit Meerschweinchen war übrigens *Stomoxys* ein erheblich besserer Ueberträger, da bei direkter Transmission von 3 Versuchen mit je 1 Exemplar 2 positiv waren, während mit 100 *Anopheles* keine Infektion erfolgte (unveröffentlicht). Bei Experimenten mit Büffelseptikämie (Versuche mit Kaninchen), die ich unlängst zusammen mit Herrn Kollegen F. Kraneveld begonnen habe, war der Unterschied nicht so auffallend. Bei direkter Transmission waren die Uebertragungskapazitäten für *Stomoxys* 1:1, für *A. fuliginosus* etwa 1:3, nach $\frac{1}{2}$ Std. 1:5 bzw. 1:19.

Nachdruck verboten.

Gordiidae as parasites of man.

By **W. Riddell, M. A., F. Z. S.** Queen's University, Belfast, N. Ireland.

For many centuries the hair-worms (Nematomorpha, Gordiidae) seem to have been popularly regarded with a more or less superstitious dread, and there are numerous references among the older writers to their supposed poisonous effect when swallowed by man or beast. It is not unlikely that this was in large measure due both to their peculiar appearance, like pieces of horse-hair or fine string, often entangled in a close knot, and also to the mystery which surrounded, and to a great extent still surrounds, their life-history. Even at the present day there are many people who cling firmly to the belief that these worms arise from pieces of horse-hair which have lain in water for a time and there come to life. It was formerly believed also that these worms, which originated in such a mysterious fashion, were the young of serpents, a belief which Shakespeare alluded to when he spoke of that „which, like the courser's hair, hath yet but life, and not a serpent's poison.“ Belief in the poisonous nature of these hair-worms was wide-spread. Aldrovandus refers gravely to it, citing Albertus Magnus in support. Two centuries later Gay found a similar belief among the Indians of Chile. It would be interesting to know whether this was native to Chile or had been introduced by Europeans. Bacounin (2) [quoted by Camerano (6)] was apparently the first scientist to put this belief to the test of experiment. After feeding the worms to dogs and cats, and finding that there seemed to be no ill results, he proceeded to swallow some himself and to persuade others to do the same. No unpleasant effects followed these experiments. He says that the worms were easy to swallow.

How far the cases referred to by Aldrovandus may be regarded as authentic is somewhat doubtful. In spite of the assertion of Villot (29) that the older writers clearly separated the hair-worms from forms which resembled them, and that „with Linnaeus the confusion begins“, it is certain that long before the time of Linnaeus such forms as *Filaria* (sensu lato) and *Mermis* were confused with *Gordius*. Nevertheless it is fairly certain that at least some of the account given by Aldrovandus does refer to some species of *Gordius*.

If we omit these older accounts for the present, it is little more than a century since the first authentic case of human infection was described, and there are now some score of cases on record. So far as I can find there has hitherto been no case reported from the British Islands, although I have no doubt that such cases have occurred. Cobbold (10) states that several specimens of *Gordius* were sent to him by physicians at various times, but unfortunately he jumped to the conclusion that all these cases were fraudulent and made no further enquiries. I feel certain that some at least of these were genuine.

The best summary of previous cases is given by Stiles (27), when recording three additional cases from America. But even this is incomplete, mainly owing to the obscure method of publication of some of the earlier cases. I have therefore thought it worth while, in addition to recording a fresh case from Ireland, to give a list of all the previous cases which I have been able to trace.

The Gordiidae are usually now divided into four genera, *Gordius*, *Paragordius*, *Parachordodes* and *Chordodes*. If we omit one species,

G. chilensis E. Blanchard, as insufficiently described, eight species have been recorded from man.

The following cases are arranged roughly in chronological order.

I. Aldrovandus, 1638. (1). The "*vitulus aquaticus*" of Aldrovandus and other authors is generally accepted as a *Gordius*, though probably the term includes more than one species. The remarks of Aldrovandus are interesting as showing the antiquity of the belief in the poisonous nature of these worms. "Such is the power of the poison of this form, if we believe the author of the *De Rerum Natura*, that if it is swallowed in drink by a man it causes him to grow faint and ill, until he dies in extreme agony. Albertus affirms the same, but that otherwise it is not dangerous to touch. Helvetius, the author of the *Historia aquatilis*, has also known cases of persons dead after swallowing the *vitulus aquaticus*. A certain man, he says, having swallowed the worm was soon attacked by pain in the region of the heart. Then a woman gave him a decoction of centaurium minus in wine. He vomited, and cast up the worm at once." Even if we allow a certain margin for possible errors in the identification of these forms, I think that there can be no doubt that at a very early period it was recognised that hair-worms could be present in the human alimentary canal and give rise to more or less severe symptoms. But when we come to his account of the infection of cattle we are on less sure ground. After saying that these worms are often swallowed by calves "*autumno maxime cum herbis; in potu vero rarius*", he states that "*deglutiti illi circa guttur et arteriam (windpipe) haerent; unde vituli paulatim contabescunt*", a statement which recalls such a form as *Gongylonema* rather than anything we know of *Gordius*.

II. Degland, 1819. (11). Species probably *Parachordodes tolosanus* (Duj.). The specimen was vomited by a boy in the neighbourhood of Lille, after an emetic. It was kept alive by Degland for nearly a month, and he gives a very careful description of it. He identified it as *G. aquaticus*, but from the description given of the integument Villot (30) considers that it was *P. tolosanus*; this seems correct. No symptoms are recorded.

III. Degland also quotes another case, from a "*M. Martin, médecin distingué de cette ville*", (Lille), of a girl 15 or 16 years old, attacked by violent colic, who passed a similar worm per anum. In both cases Degland attributed the infection to drinking bad water.

IV. Cloquet, 1822. (9). Species uncertain.

A farmer in the neighbourhood of Uzerches, France, who had for some years suffered from attacks of an epileptiform nature, vomited up a worm nine inches in length by half a line in breadth, after which the attacks permanently ceased. The worm was sent to Cloquet, who described it as a new species under the name of *Ophiostoma Pontieri*. It was certainly a Gordiid, belonging to the group in which the posterior end of the male is bilobed: this bilobed posterior end Cloquet mistook for the head. I do not consider it possible to identify the species further.

This case has been confused in an inexplicable manner with that of Degland. Blanchard (3), after referring to Degland's determination of his specimen as *G. aquaticus*, says "*H. Cloquet l'a décrit sous le nom d'Ophiostoma Pontieri*", and in a later paper (4) he also says "*Cloquet, qui a observé le Gordius recueilli par Degland l'a considéré comme un nouvel helminthe, auquel il a donné le nom d'Ophiostoma Pontieri*." Railliet (25) says practically the same. All other writers except Stiles appear to have followed Blanchard. Stiles (27) points out that there has evidently been some confusion, since in Degland's case the patient was an eight year old boy at Lille, while in the case of Cloquet the patient was a farmer near Uzerches. Stiles had not been able to consult Degland's paper, and accordingly merely pointed out the discrepancy. Degland gave a very thorough account of his specimen, and had no hesitation in identifying it as *G. aquaticus*; he even refers to the bifid posterior end, and points out the error of those who have regarded it as the head. Cloquet published two notes on his case, and in neither of these is there any reference to Degland. (The fact that Blanchard, in referring to Cloquet's note in the *Bull. de la Soc. philomath.*, quotes both pages 16 and 42 makes one doubt if he had consulted the original, since the note on page 16 refers to an entirely different organism.) Villot identified Degland's specimen as *Parachordodes tolosanus*, but apparently knew nothing of Cloquet, as in none of his papers does he mention him at all. I can find no evidence that Cloquet had even heard of Degland's specimen. However the confusion has arisen there can be no doubt that the two cases are absolutely distinct, and unless some further evidence is available we cannot regard *Ophiostoma Pontieri* as a synonym of *P. tolosanus*, since Cloquet's description is insufficient to identify it.

V. Gay, 1849. (14). Of a Chilean species Gay says "*The Indians fear it greatly, and believe that if introduced into the body it causes severe illness*". But no specific case is given. This form was described by E. Blanchard, in Gay's work, as *G. chilensis*, but it was so badly preserved that no adequate description was possible, and hence this name must lapse.

VI. Siebold, 1854. (26). Species, according to Siebold, *G. aquaticus* L. Clinically this is the most interesting case of all. The patient was a Bavarian peasant girl, 22 years old, who had previously been in perfect health. In January 1853 she fell ill. She lost colour; her former cheerful temperament changed and she became sometimes irritable, sometimes melancholic, and was profoundly nervous. There was considerable bodily uneasiness, and trembling of the limbs. Headache was intense; there was occasional dyspnoea; the pulse was rapid and irregular. There were frequent outbreaks of hysterical laughing and crying. Menstruation was suppressed. There was no nausea and no loss of appetite. The patient was treated for hysteria and appeared to recover except for attacks of colic. Nine months later the same symptoms reappeared with even greater intensity, this time with loss of appetite and nausea. An emetic was given and the Gordius was vomited. All nervous symptoms then subsided, menstruation became regular, and the girl returned to her former condition of complete health.

Siebold believed that the worm had not been swallowed until just before the second attack. But the symptoms described are quite similar to those which have been noted in many cases of acute helminthiasis, and the fact that recovery was rapid and complete after expulsion of the worm supports the view that the illness was due to it. Blanchard believed that in this case, and also in the later case of Patruban, the worm had been swallowed as a larva and developed to the adult form in the alimentary canal of the patient.

VII. Kirtland, ante 1856. Species *Paragordius varius* (Leidy).

This case is always quoted from Diesing in his words (12) "Ohio, ex ano puellae expulsus (Kirtland)". Stiles says that he has not been able to trace the original account. I do not think that Kirtland ever recorded the case. What I take to be the original record is in Leidy (17); "Professor Kirtland has given me a male, 5 inches in length, said to have been passed per anum by a girl near Cleveland, Ohio." No further particulars are given.

VIII. Patruban, 1875. (24). Species *G. aquaticus* Linn. (fide Patruban.)

A specimen, determined by Patruban as *G. aquaticus*, was sent to him from Dalmatia as having been passed per anum by a boy eight years old. He was afterwards informed that a second worm had been passed. Having tried vainly to infect chickens, Patruban decided that the worm could not have been swallowed as a larva, and that the boy must have swallowed the adult when he was drinking from some stream.

IX. Fiori, 1881. (13). Species *Parachordodes tolosanus* (Duj.).

A man 42 years old was being treated for ankylostomiasis. In the stool an active specimen of a Gordiid was found, which D. Rosa identified as *G. tolosanus*. Any symptoms observed were consistent with the ankylostomiasis.

X. Cerruti and Camerano, 1888. (8). Species *G. aquaticus* Linn. This specimen was vomited by a boy aged 7 years, at Trabucco, Italy. There was severe gastric pain. The authors then believed that it had been swallowed as a larva, but Camerano (7) later abandoned this theory and considered that the worm must have been swallowed when adult.

XI. R. Blanchard, 1897. (4). Species *Parachordodes tricuspidatus* (Dufour). A boy, 15 years of age, after swallowing a glass of wine felt a tickling in the throat, and pulled out the worm with his fingers. About a fortnight before he had drunk from a small stream, and had since suffered from slight colic which disappeared after expulsion of the worm. Blanchard states that hair-worms are rare in this district (Charente). In this case he appears to think that the worm was swallowed as an adult.

XII. Linstow, 1898. (18). Species apparently *G. aquaticus* Linn. A specimen in Göttingen Museum labelled "aus einer Frau im Kurland". No further particulars are given, and it is not quite clear whether the paragraph refers to this species or another.

XIII. Topsent, 1900. (28). Species *Parachordodes violaceus* (Baird). Vomited by a farmer, 34 years old, near Fougères. There had been gastric trouble for about a month, and for a week prior to the expulsion of the worm there had been a sensation of something moving in the throat, with tickling and nausea. All the symptoms disappeared after the worm was removed.

XIV. Parona, 1901. (23). Species *Parachordodes pustulosus* (Baird). This specimen was passed per anum by a woman, 45 years old, at Lodi. For about three months there had been pruritus, a mucous discharge from the rectum, and a feeling of a moving body somewhere in the abdomen. These symptoms ceased after removal of the worm.

XV—XVI. Ward, 1903. I quote from Stiles (27). Ward mentions that two unpublished cases had recently been communicated to him, one from Michigan and one from Maryland. In a letter to Stiles he states that he had been unable to obtain the specimens, and no further information is available. In the absence of the specimens these cases are unsatisfactory, but when they are published on the authority of Ward and Stiles I feel compelled to include them.

XVII. Guéguen, 1905. (15). Species *Parachordodes alpestris* (Villot). Vomited by a labourer, 34 years old, at Chabanais. After drinking stagnant water he was attacked by colic which lasted for a day or two. Two months later he developed loss of appetite, colic, and vomiting after meals. After five days of this he vomited a female *P. alpestris*, 34.4 centi-

metres long. Guéguen believed that the worm had been swallowed when young and developed in the alimentary canal.

XVIII. Linstow, 1906. (19). Species *Paragordius cinctus* Linstow. Recorded from the Transvaal on the strength of a labelled specimen in the Berlin Museum. No details are available.

XIX—XXI. Stiles, 1907. (27). Species *Paragordius varius* (Leidy). Three cases are recorded from North America.

XIX. Described from an entry in Stiles' host catalogue of parasites. "*Gordius trifurcatus*-*varius*, determined by — — ? — —, collected by Dr. Bowditch, host Homo, location — — ? — —, locality Saco, Maine, U. S. A." No further details could be obtained.

XX. Two specimens from London, Ontario. The worms were said to have been passed per anum in large numbers by a girl 13 years old. According to the physician there were no symptoms. The worms were "stiff as wire", leading to the suspicion that they had been dried and introduced into the stool. A week later similar worms were passed. The mother said that the child's behaviour had led her to suspect the presence of worms. The child was in the habit of eating apples in large numbers. This case is suspicious, but Stiles is satisfied to admit it.

XXI. One male and one female specimen, forwarded to Stiles by Dr. J. L. Miller of Chicago, with the statement that they had been given to him by a physician who reported that they had been vomited by a patient. No further details could be obtained.

XXII. Zchokke, 1912. (32). Species *Gordius aquaticus* Linn. This was passed per anum by a child 2½ years old. For several weeks the child was nervous and excitable, crying out suddenly at night; it also complained of stomach pain. Colic was apparently not constant. A considerable quantity of blood was passed about five weeks before the worm was evacuated.

XXIII. New Case. Species *Gordius aquaticus* Linn. (This is the form which Camerano (7) calls *G. villoti* Rosa. I am not satisfied that Camerano's reasons for abandoning the Linnaean name are sufficient.) This specimen was passed, per anum, towards the end of 1927 by a child aged 12 months, a patient of Dr. Rowland Hill of Belfast; Dr. Hill brought the worm to me. Because of the age of the patient I have done my best to satisfy myself as to the genuineness of this case, and I do not think there can be any doubt on that point. Both the nurse and the mother of the child are exceptionally keen and intelligent, and not to be suspected of any attempt at deception. The nurse states that when she was removing soiled linen from the child she noticed the worm moving among the faeces; she called the mother, who removed the worm, placed it in a small bottle of spirit, and sent it to Dr. Hill. No symptoms of any gastro-intestinal irritation were observed. The specimen was a male; its length in spirit, when I received it, was about 13 centimetres. It was immature.

This series of cases raises two main questions, the importance of these forms from a medical standpoint and the mode of infection. It will be observed that in the majority of the recorded cases no symptoms were observed except more or less severe colic and occasionally nausea, signs of a certain amount of gastro-intestinal irritation; in some no symptoms at all were noticed. For this reason practically all writers who have included the Gordiidae among human parasites dismiss them as of no clinical importance. But there are two cases, those of Siebold and of Cloquet, which raise the suspicion that this dictum may be too dogmatic. In the case described by Siebold a previously healthy girl suddenly developed marked nervous symptoms, which disappeared completely when the worm was expelled. The clinical history of this case could quite well be paralleled from many accepted cases of helminthiasis; the main exceptional point is that apparently only one worm was present. The fact that complete recovery followed when the worm was got rid of supports the view that it was the cause of the condition. In Cloquet's case again there were epileptiform attacks, extending over a period of „quelques années“, which ceased „pour ne plus revenir“ after the worm was got rid of. Two such cases out of the comparatively small number described make one suspect that the hair-worms are not always the harmless trespassers which they are considered to be. In Zchokke's case the mention of the discharge of blood is interesting, as this is the only case in which any such sign of an intestinal lesion is recorded. If this lesion was due to the parasite we cannot regard the latter as innocuous. Further, if we regard this lesion as caused by the worm, we have some ground

for suspecting that infection was due originally to a larva which had encysted in the wall of the intestine, the lesion being caused by the worm breaking through into the lumen of the gut. We shall return to this point later. We see, then, that although in the majority of cases the presence of the worm is not accompanied by symptoms of any marked severity, there are cases in which it at least coincided with fairly grave disorders. But are we entitled to assume that the parasite was present throughout the course of the illness? Siebold doubted this in his case, but I see no evidence against it. In Cloquet's case there is more reason for doubt. Could the one worm have been present for some years? It seems rather difficult to make such an assumption, but I should hesitate to say that it is absolutely impossible; here again we have the problem of the life-history to consider. The fact that the attacks completely ceased after the parasite was expelled is strong presumptive evidence that its presence was a causative agency. And there is also the possibility that other specimens had been present from time to time and had been expelled per anum without being noticed. The evidence of these cases is at least enough to make one hesitate before subscribing to the commonly received opinion that these forms are of no clinical importance.

Much will depend upon the view taken as to the mode of infection. Many workers have held that the parasite was ingested in the larval stage and developed to the adult in the alimentary canal of the host. This is the view taken by Guéguen, for example; it is the view originally held by Blanchard (3), though afterwards (4, 5) he seems to have changed his mind. Cerruti and Camerano also adopted this theory in their original account, though Camerano (7) later believed that the worm was swallowed as an adult. Many of the recent authors adopt the view that infection is by the adult. That this is quite possible is shown by the experiments of Bacounin. But even though it is quite possible to swallow an adult *Gordius* without any inconvenience, it is difficult to imagine it being swallowed without being noticed. In the case which I have described this difficulty is increased by the age of the patient. The next youngest case is Zschokke's; here the child was $2\frac{1}{2}$ years old, and could quite conceivably have had access to a stream or pond infected by *Gordius*. But in the present case this is impossible. I am also informed that all water given to the child, or used in preparing its food, was previously boiled. This increases the difficulty in any attempt to account for the source of infection. There are a number of dogs belonging to the house, and the child is very fond of playing with them. The parents seem inclined to blame this source for the infection, but this seems extremely improbable. Whether we regard infection as occurring in the larval stage of the worm or in the adult, this would seem to mean that a dog, passing through infected water, got the parasite entangled in its coat, and thence it was transferred to the child. For the adult form this is very improbable; for the larva it is perhaps less so, though even here it seems unlikely. Still, the larva remains in the egg for some time before emerging, and there is the possibility that in some manner the larva, either still enclosed in the egg or just recently emerged, was conveyed to a spot where the child could infect itself.

The belief that infection is caused by swallowing the adult worm rests mainly upon the usually accepted view of the life-history. This, which is largely due to Linstow, may be briefly summarised as follows. Fertilisation is internal, and the ova are deposited in long chains upon waterweeds during spring and summer. From the egg emerges an active larva which bores into an insect larva, such as an *Ephemera*, and there encysts, remaining during metamorphosis and passing over into the adult insect. This is devoured by a carnivorous

form, such as a Carabid, and in this the Gordiid develops further, to what is usually termed the juvenile stage, growing until it occupies the greater part of the perivisceral cavity of the host. From this it emerges and reaches the water as a mature adult, and in the water copulation occurs. The development from larva to adult would take about a year and a half. The adult life is short, and life ends soon after reproduction.

However probable this scheme of the life-history may seem, there are certain reservations to be made. The transference of the larva to the carnivorous beetle in the manner described, and its subsequent development there, are purely a matter of inference. Carnivorous beetles, such as *Pterostichus*, do feed on prey infected with larval Gordiids and are themselves found infected with the juvenile stage. But the actual development of the ingested larva to the juvenile remains to be demonstrated. So far as I am aware the only direct experiments on this point are those of Meissner (21) and Villot (31). Meissner says „Ich fütterte Wasserkäfer mit *Ephemera*-larven, konnte aber von Gordien kein spur auffinden.“ Villot tried several feeding experiments: various insect larvae, which he knew to be infected with *Gordius* larvae, were fed to many different carnivorous insects, and in no case did infection result. It may be that infection of the carnivorous form would result provided that the *Gordius* larva was at a definite stage of development when it was swallowed, but this again is purely hypothetical. Nor has any satisfactory explanation been given as to how the ingested larva, set free in the alimentary canal of the insect, travels to the perivisceral cavity, which is its normal habitat. *Gordius* larvae have been found not only in several insect larvae but also in the foot of various aquatic molluscs (*Limnaea* and *Planorbis*), in a leech (*Nephelis*), in the mesentery of *Rana*, and in the wall of the alimentary canal of *Petromyzon* and various fishes. It may be that, as Camerano and Villot think, these larvae are side-tracked and will develop no further, but this also, though at least in many cases it seems probable enough, still lacks proof. The juvenile stage also has been found in several widely divergent hosts. Insects are the normal hosts, but the worms have also been found in other Arthropods, such as spider and centipede, in *Amblystoma*, in birds, in mice, in horses and in man. It is difficult to see how a spider could be infected by feeding upon an infected insect larva; it seems much more probable that we have here a case of direct infection. Villot (31) did not believe in this mode of infection; he thought that the larva developed in the one host. According to him the encysted larvae degenerate, being incapable of further development. Man, he thinks, is infected by swallowing the juvenile or adult. He pointed out that many of the insects in which the juvenile stage is found are not normally carnivorous. Linstow replies to this that many insects which are not normally carnivorous are known to accept animal food at times. But if only a small proportion of insect larvae are parasitised, the chances against such an accidentally carnivorous form feeding on a parasitised larva would be very great. Mühldorf (22), when collecting *Gordius* in the neighbourhood of Czernowitz for his researches into the embryology, paid a certain amount of attention to insect larvae found in the same localities; out of 600 *Ephemera* and *Corethra* larvae examined, he only found four which he regarded as containing larval Gordiids. This point requires further investigation. Villot believed that such forms as the Carabidae, with earth-dwelling larvae, were infected through the Gordiid larvae being carried into the soil by flooding. In this connection there is an observation of great interest which appears to have escaped the notice of those who have worked at this subject. In 1837 Leblond published at Paris an atlas to accompany the French translation of Bremser's work on intestinal

parasites (16). Leblond had himself worked at *Gordius*, had recognised, as few then had, the difference between it and "*Filaria*", and appears to have been quite competent to recognise it. In the notes to the atlas he refers as follows to a communication from Audouin. "J'ai pu voir, grâce à son obligeance, un assez grand nombre de vers blancs, c'est-à-dire plusieurs larves du Hanneton ordinaire, (*Scarabaeus melolontha*), victimes de *Gordius* parasites. Les unes, enroulées sur eux-mêmes, offraient des parois minces, translucides, renitentes, et servaient en quelque sorte d'habitation close à ces Helminthes; les autres n'étaient pas encore saisies d'une manière aussi complète, et les *Gordius* pendants au-dehors ne les pénétraient qu'à demie; enfin, avec ces larves infestées ou surprises existaient pêle-mêle des *Gordius* libres qui n'avaient pas encore trouvé leur proie." Leblond had here evidently seen a number of cockchafer grubs in which *Gordius* had reached the juvenile stage and was emerging. Considering how little was at that time known about the parasitism of *Gordius*, it is not surprising that he should have thought that the process was beginning instead of ending. But here is a case of a vegetable-feeding larva extensively parasitised by the juvenile stage of *Gordius*. This certainly is more in favour of direct infection and development in situ than of secondary transmission.

Camerano (7) also doubted the occurrence of infection by feeding on infected insect larvae. He believed that development from the armed larva to the free stage is normally gone through in one host. Although insects are the normal hosts, Gordiid larvae may penetrate into, and become encysted in, many kinds of aquatic animals, but it is only very rarely that such larvae will be in a position to undergo their metamorphosis. And while, in regard to his previous belief that the patient in Cerruti's case had been infected by the larva, he now says that he does not consider this hypothesis acceptable, he yet says that he does not believe that we can exclude the possibility of the direct development of the larva to the adult in man. He will not agree to call the Gordiids of vertebrates "pseudoparasites", believing that, even if very rarely, vertebrates may act as hosts in the true sense. Mühldorf (22) seems very sceptical about the accepted theory. He remarks on the difficulty of accounting for the enormous numbers of hair-worms found in some localities, and finally says with regard to the later development, "Was nun mit den ausgeschlüpften Larven geschieht, darüber wissen wir nichts bestimmtes." To sum up. We have evidence that the presence of hair-worms in the human alimentary canal may be accompanied by grave disorder. We do not as yet know definitely how infection occurs. In the light of our present knowledge I do not think that we can rule out the possibility of direct infection by the larva, possibly even by the ingestion of eggs containing larvae ready to emerge. In Zschokke's case the discharge of blood points to the presence of a lesion such as would be caused by the rupture of a cyst in which a larva had been developing. To admit the possibility of infection by the larva does not necessarily mean excluding the possibility of infection by swallowing the adult. In some of the cases the duration of the illness, assuming that infection occurred at the time supposed, is too short to allow of development from the larva, unless this proceeds much more rapidly than is believed. Until we have much more certain evidence against the possibility of larval infection we are not justified in classing these worms as pseudoparasites. We know that they pass a considerable part of their life-history as obligatory parasites. If this period can be passed in man they are no more pseudoparasites than is such a form as *Fasciola hepatica*. But until we have a much more definite knowledge of their life-history their exact position as human parasites must remain in doubt. Assuming that they are normally

parasites of insects, we require precise information as to the method of infection and also as to the course of development, within the host, from the larva to the juvenile. Regarding the first point I do not think that we can say much more than that the armed larva has been observed to bore its way into insect larvae. On the second point there seems to be no definite information available at all.

Literature referred to.

- 1) Aldrovandus, De Animalibus Insectis. Lib. VII. cap. X, 1638. — 2) Bacounin, A., Mémoire sur les Gordiens . . . de Turin. (Mém. de l'Acad. Roy. Sci. Turin. 1788. p. 23—42). — 3) Blanchard, R., Traité de zoologie médicale. Paris. Vol. 2. 1889. p. 86. — 4) Ders., Pseudo-parasitisme d'un Gordius chez l'Homme. (Bull. de l'Acad. Méd. Paris. Vol. 37. 1897. p. 614—618). — 5) Ders., Etiologie de l'helminthiase intestinale. (Arch. de Parasitol. T. 3. 1900. p. 485—491). — 6) Camerano, L., Ricerche intorno al parassitismo ed al polimorfismo dei Gordii. (Mem. Acc. Sci. Torino. Ser. 2. Vol. 38. 1887. p. 395—413). — 7) Ders., Monografia dei Gordii. (Ebenda. Ser. 2. Vol. 47. 1897. p. 339—419). — 8) Cerruti, G. B. and Camerano, L., Di un nuovo caso di parassitismo di Gordius adulto nell'Uomo. (Giorn. Acc. Med. Torino. 1888. 6—7. p. 264—269). — 9) Cloquet, H., Sur une nouvelle espèce d'Entozoa, du genre Ophiostome. (Bull. Soc. Philomath. Paris. 1822. p. 32. — Note sur une nouvelle espèce d'entozoaire. (Nouv. Journ. de Méd., etc., T. 13. 1822. p. 97—99). — 10) Cobbold, T. S., Entozoa. London. 1864. p. 412. — 11) Degland, C. D., Description d'un ver filiforme, rendu par vomissement. (Mém. Soc. de Sci. et de l'Agricult. etc. de Lille. Sér. 1. (1819—1822). Lille 1823. p. 166). — 12) Diesing, C. M., Revision der Nematoden. (Sitzungsber. Kaiserl. Akad. Wissensch. Wien. Bd. 42. 1860. p. 593—736). — 13) Fiori, G. B., Un caso di parassitismo di Gordius adulto nell'uomo. (Giorn. Accad. Med. Torino. Ser. 3. Vol. 29. 1881. p. 727). — 14) Gay, C., Historia fisica y politica de Chili. Vol. 3. 1849. p. 109. — 15) Guéguen, F., Nouveau cas de pseudo-parasitisme d'un Gordius dans le tube digestif de l'homme. (Compt. Rend. Soc. Biol. Paris. T. 59. 1905. p. 398—400). — 16) Leblond, C., Nouvel Atlas (to accompany the "Traité sur les vers intestinaux, par Bremser, traduit par Grundler.") Paris. 1837. — 17) Leidy, J., Synopsis of Entozoa, etc. (Proc. Acad. Nat. Sci. Philadelphia. 1856. p. 42.) Reprinted in: Researches in Helminthology and Parasitology. (Smithsonian Misc. Coll. Vol. 46. 1904. Nr. 1477). — 18) Linstow, O. v., Zur Entwicklungsgeschichte von Gordius aquaticus. (Arch. f. mikr. Anat. Bd. 51. 1898. S. 747—763). — 19) Ders., Gordiiden und Mermithiden des K. Zool. Mus. in Berlin. (Mitt. Zool. Mus. Berlin. Bd. 3. 1906. S. 241—248.) — 20) Ders., Ueber die Entwicklungsgeschichte von Gordius tolosanus. (Centralbl. f. Bakt. u. Par. Bd. 9. 1891. S. 760—762.) — 21) Meißner, G., Beiträge zur Anatomie und Physiologie der Gordiaceen. (Ztschr. f. wiss. Zool. Bd. 7. 1856. S. 1—144.) — 22) Mühldorf, A., Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Gordius-Larve. (Ztschr. f. wiss. Zool. Bd. 41. 1914. S. 1—75.) — 23) Parona, C., Altro caso di pseudo-parassitismo di Gordio nell'Uomo. (Clinica Medica, Milano. 1901. No. 10.) — 24) Patruban, C. von, Ueber das Vorkommen von Gordius aquaticus beim Menschen. (Wien. med. Jahrb. 1875. S. 69.) — 25) Railliet, A., Traité de Zoologie médicale. (2e Ed., Paris. 1895. p. 563.) — 26) Siebold, C. T. von, Ueber die Fadenwürmer der Insekten; Nachtrag IV. (Entomol. Ztg. [Stettin]. Bd. 15. 1854. p. 103—121.) — 27) Stiles, C. W., Three new American cases of infection of man with horse-hair worms. (Bull. No. 34. Hyg. Lab. U. S. Pub. Health and Mar. Hosp. Serv. Washington 1907.) — 28) Topsent, E., Sur un cas de pseudoparasitisme chez l'homme du Gordius violaceus. (Bull. Sc. et Méd. de l'Ouest. T. 9. 1900. No. 1.) — 29) Villot, A., Monographie des Dragonneaux. (Arch. Zool. expér. T. 3. 1874. p. 39—72 and 181—238.) — 30) Ders., Sur le parasitisme et le détermination spécifique des larves des Gordiens. (Zool. Anz. T. 7. 1884. p. 84—88.) — 31) Ders., L'évolution des Gordiens. (Ann. Sc. Nat., Zool. (7). T. 11. 1891. p. 329—401.) — 32) Zchokke, F., Gordius als Parasit des Menschen. (Centralbl. f. Bakt. u. Par. Abt. I. Orig. Bd. 63. 1912. Heft 1. S. 64—67.)

Untersuchungen über die Rolle der Individualität und deren mögliche Beeinflussung durch oral gegebene Lipide für die Hämolysinbildung bei Kaninchen.

[Aus dem Institut für exper. Therapie „Emil von Behring“ Marburg-Lahn (Leiter: Privatdozent Dr. H. Schmidt).]

Von Dr. med. **Hans Groß.**

Versuche über den Einfluß äußerer und innerer Faktoren auf die Bildung hämolytischer Ambozeptoren sind nach verschiedener Richtung hin ausgeführt und beschrieben worden. So beschäftigten sich erst kürzlich Dold und Groß, angeregt durch Untersuchungen von Lewis und Loomis, Dienes und Schoenheit, Andrei u. a., die mit tuberkulösen Meerschweinchen experimentiert und eine deutliche Steigerung der Antikörperbildung speziell von Präzipitinen, Hämolsinen und komplementbindenden Stoffen gefunden hatten, mit der Frage der Wirkung einer tuberkulösen Infektion auf die Hämolysinbildung bei Kaninchen. Das Ergebnis der Untersuchungen war, daß die bestehende tuberkulöse Erkrankung bei Kaninchen, die 1½ bzw. 3 Monate vor Beginn der Immunisierung gegen Hammelerythrozyten mit Tuberkelbazillen (*Typhus bovinus*) infiziert waren, keinen Einfluß auf die Bildung von Hämolsinen hatte. Weyrauch fand eine Steigerung der Hämolysinproduktion bei thyreoidektomierten Tieren, aber keinen Unterschied des hämolytischen Serumtiters zwischen kastrierten und normalen Kaninchen. Von Schulz wurde eine erhöhte Ambozeptorbildung durch intravenöse Injektion von Deuteroalbumose erzielt. Versuche ähnlicher Art sind vielfach ausgeführt worden, jedoch kann hierauf nicht näher eingegangen werden. Erwähnt sei nur noch die Beobachtung von Kabrhel und Kredra, die durch Einschaltung wochenlanger Intervalle zwischen den Injektionen hochwertige hämolysinhaltige Kaninchensera hergestellt haben.

Uns interessierte nun seit langem die Frage der Beziehung oder des Einflusses individueller Faktoren, wie Alter, Geschlecht und Rasse der Kaninchen auf die Hämolysinbildung. Daß die Wertigkeit eines Immunserrums von individuellen Eigentümlichkeiten der serumspendenden Tiere in höherem Maße abhängig ist, haben jahrelange Erfahrungen und tägliche Beobachtungen gelehrt, die sowohl bei großen wie auch bei kleineren serumliefernden Tieren (Pferde, Kaninchen) gemacht wurden.

Was speziell die hämolysinhaltigen Sera betrifft, so haben wir bei Titrierungen von Einzelsera, die mit der gleichen Hammelerythrozytensuspension und dem gleichen Komplement vorgenommen wurden, hämolytische Titerwerte von 1:2000 bis 1:25000 gefunden. Weiterhin haben wir die Beobachtung gemacht, daß Kaninchen einer bestimmten Rasse nie Sera mit einem höheren Durchschnittstiters als 1:3000 bis 1:6000 lieferten. Auf Grund dieser Erfahrungen stellten wir an einem größeren Tiermaterial systematische Untersuchungen über die Beziehung von Alter, Geschlecht und Rasse der Kaninchen zur Hämolysinbildung an. Die für unsere Versuche benötigten Kaninchen wurden uns von der Tierfarm der Behring-Werke geliefert. Es bestand somit für uns die Möglichkeit, genaue Angaben über Züchtung, Alter, Rasse usw. zu erhalten.

Das Ergebnis der Versuche, die an 200 Kaninchen angestellt wurden, war kurz zusammengefaßt folgendes: Das Alter der Tiere spielte für die Hämolysinbildung eine große Rolle, insofern als unter einem Jahr alte Kaninchen weniger Hämolsine produzierten als ältere ausgewachsene Tiere. In vielen

Fällen hatten die Sera der jungen Tiere einen um die Hälfte geringeren hämolysischen Titer als die älteren der gleichen Rasse.

Einen Einfluß des Geschlechts auf die Hämolysinbildung konnten wir nicht feststellen. Auch gravide Tiere zeigten keinen höheren Hämolysingehalt ihrer Sera.

Die Rasse der Kaninchen war von größerer Bedeutung. Nach unseren Untersuchungen eignen sich die belgischen Riesenkaninchen und Kreuzungen dieser mit den grauen Landkaninchen, sowie weiße Riesenkaninchen und Kreuzungen derselben mit grauen Kaninchen (Schecke) sehr gut für die Ambozeptorgewinnung. Die braunen Hasenkaninchen verhielten sich der Immunisierung gegenüber weniger resistent und gaben auch keinen sehr hohen Serumtiter.

Um hochwertige hämolytische Sera zu erhalten, ist daher zu empfehlen, möglichst kräftige, ausgewachsene und gesunde Kaninchen obiger Rassen zu nehmen.

Auf Grund dieser Feststellungen und angeregt durch Versuche von Surányi interessierte uns weiterhin die Frage einer möglichen Beeinflussung der Individualität durch oral gegebene Lipide auf die Hämolysinbildung bei Kaninchen. Surányi hatte festgestellt, daß bei der Immunisierung kombiniert mit Lipoidfütterung das Cholesterintier ein besseres, das Lezithintier ein minderwertigeres Immunserum lieferte als das Kontrolltier. Er immunisierte 3 Kaninchen von demselben Wurf gegen Typhus unter ganz gleichen Versuchsbedingungen, mit dem Unterschied, daß das erste Tier vom Anfang der Immunisierung an täglich 1 g Cholesterin (Merck), das zweite täglich 1 g Lezithin (Richter) bekam, während das letzte als Kontrolle nur soviel Lipide erhielt, wie durch die Nahrung zugeführt wurden. Das schwächste Immunserum gab das Lezithintier, während das Serum mit dem höchsten Titer von dem mit Cholesterin behandelten Kaninchen stammte. Zwecks Hämolysingewinnung wurden von Surányi 2 Kaninchen mit Hammelerythrozyten behandelt. Das eine wurde mit Cholesterin 1 g pro die gefüttert. Aus äußeren Gründen konnte die letzte intravenöse Injektion erst am 14. Tage der Immunisierung erfolgen. Das Kontrolltier bekam kurz nach der Injektion einen typischen anaphylaktischen Anfall und ging ein, wogegen das Cholesterintier am Leben blieb und ein hochwertiges hämolysierendes Serum (Titer 1:20000) lieferte. Da Surányi den Hämolysinverseuch nur mit einem Tier angestellt hat, so können für den Ausfall des Ergebnisses wohl individuelle Faktoren und Zufälligkeiten eine Rolle spielen. Wir führten daher unsere Versuche an einem größeren Tiermaterial aus und wählten 30 kräftige, ausgewachsene Kaninchen derselben Rasse und ungefähr gleichen Alters. Von diesen bekamen 10 Kaninchen täglich 1 g Cholesterin (Merck) als Pillen zu 0,1 g oral vom 1. Tage der Immunisierung ab bis zur Entblutung, 5 Kaninchen wurden täglich mit 1 g Lezithin (Merck) über dieselbe Zeit gefüttert. Das Lezithin war in Aqua dest. emulgiert und wurde mit Hilfe einer Schlundsonde gegeben. 15 Tiere dienten als Kontrolle. Alle Kaninchen erhielten in Intervallen von je 4 Tagen 2 ccm, 3 ccm, 4 ccm, 5 ccm und nochmals 5 ccm einer 5proz. Hammelerythrozytensuspension intravenös. Auch wurden vor der Behandlung die Gewichte der einzelnen Tiere genau bestimmt und in Abständen von 8 Tagen kontrolliert. Während der Zeit der Immunisierung, die sich auf die Monate November und Dezember 1927 erstreckte, gingen von den Kontrolltieren 4 an Lungenseuche ein, 2 erkrankte Tiere wurden vorzeitig entblutet. Von den Cholesterintieren wurden 2 und von den Lezithintieren 1 wegen bedrohlicher anaphylaktischer Erscheinungen vorzeitig entblutet. Die mit Cholesterin und Lezithin behandelten Kaninchen schienen sich der Immunisierung und auch äußeren Schädlichkeiten gegenüber resistenter als die Kontrolltiere zu verhalten. Die Gewichtszahlen stiegen während der Behandlung bei den Versuchstieren gut an, besonders bei den mit Lezithin gefütterten Kaninchen.

Am 5. Tage nach der letzten Injektion wurden die Kaninchen zum Zwecke der Serumgewinnung aus der Art. femoralis lebend entblutet. Die Titerbestimmungen der Einzelsera, die mit demselben Komplement und der gleichen 5proz. Hammelerythrozytenaufschwemmung ausgeführt wurden, ergaben folgendes Resultat:

Von den 8 Cholesterintieren zeigten je 2 einen Titer von 1:3000, 1:6000, 1:8000 und 1:12000. Die 4 Lezithintiere hatten zu je 2 einen Serumtiter von 1:6000 und 1:8000. Von den 9 Kontrolltieren zeigten 2 Kaninchen einen hämolytischen Titer von 1:3000, 4 einen Titer von 1:4000 und die anderen 3 Tiere einen Titer von 1:6000, 1:8000 und 1:12000.

Vergleicht man die Titerwerte der Versuchs- und Kontrolltiere, so wurde durch die Lipoidfütterung keine Steigerung der Hämolysinproduktion erzielt, denn bei der Versuchs- und Kontrollgruppe wurde bei verschiedenen Seren kein wesentlicher Unterschied in der Titerhöhe festgestellt.

Da die Möglichkeit bestand, daß die während der Behandlung ausgebrochene Stallseuche die Versuchsergebnisse beeinträchtigt haben könnte, setzten wir eine zweite Versuchsreihe an. Wir wählten hierzu 10 ausgewachsene, kräftige Kaninchen der gleichen Rasse und ungefähr gleichen Alters. 3 Tiere wurden mit Cholesterin und 3 mit Lezithin in der oben erwähnten Weise behandelt, 4 Kaninchen dienten als Kontrolle. Die Immunisierung gegen Hammelblutzellen erfolgte bei allen Tieren wie oben. Während des Immunisierungsprozesses mußten ein Cholesterin- und ein Lezithintier wegen bedrohlicher anaphylaktischer Erscheinungen vorzeitig entblutet werden. Am 5. Tage nach der letzten Injektion erfolgte die Entblutung aus der Art. femoralis. Die Titerbestimmungen der Sera an verschiedenen Tagen mit dem jeweils gleichen Komplement und derselben 5proz. Hammelerythrozytensuspension zeigten ein gleiches Ergebnis wie der erste Versuch. Ein Cholesterin- und ein Kontrolltier hatten den höchsten Serumtiter (1:5000), während die anderen Sera einen Titer von 1:3000 bis 1:4000 zeigten. Einen Unterschied des Hämolysingehaltes der Sera von Versuchs- und Kontrolltieren konnten wir auch diesmal nicht feststellen.

Aus beiden Versuchen, die mit einer größeren Zahl von Kaninchen angestellt waren, ergibt sich somit, daß die orale Darreichung von Lipoiden (Cholesterin und Lezithin) in täglichen Gaben von 1 g während der Zeit der Immunisierung keinen auf die Hämolysinbildung fördernden Einfluß auszuüben vermag. Die Beobachtungen von Surányi konnten auf Grund unserer Versuche nicht bestätigt werden.

Literatur.

Weyrauch, Münch. med. Wochenschr. 1925. Nr. 25; Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 101. H. 5/6. — Schultz, Arch. f. Dermat. u. Syph. Bd. 135. 1921. — Kabrhel u. Kredra, Zentralblatt f. Haut- u. Geschl.-Krankh. Bd. 4. 1922. — Dold u. Groß, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 104. 1927. — Surányi, Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 53. H. 1.

Nachdruck verboten.

Ueber normale Hämolysine bei Tieren, die in ihren Erythrozyten heterogene Antigene enthalten.

[Aus dem Mikrobiologischen Forschungsinstitut des Volksbildungskommissariats in Moskau (Direktor Prof. I. L. Kritschewski).]

Von E. W. Eksempljarskaja.

Unter den zur Meerschweinchengruppe¹⁾ gehörenden Tieren nehmen Hammel, Huhn, Schildkröte und Katze eine Sonderstellung ein, da ihre Ery-

1) Huhn, Schildkröte und Katze wurden der Meerschweinchengruppe zugeteilt, weil ihre Organe heterogenes Hammelantigen enthalten [Forssman (5)].

throzyten heterogene Antigene enthalten [Kritschewsky (1), Friede (2), Friede und Grünbaum (3), Kritschewsky und Messik (4)].

Aber aus noch zwei anderen Ueberlegungen müssen diese Tiere zu einer im immunbiologischen Sinne speziellen Gruppe gezählt werden: 1) ist ihr Artantigen im Tierreich sehr verbreitet (die Artantigene des Huhnes, der Schildkröte und der Katze kommen zusammen mit dem Artantigen des Hammels in den Organen einer ganzen Reihe von Tieren vor, die nach der derzeitigen zoologischen Klassifikation voneinander weit entfernt sind) [Forssman (5), Doerr und Pick (6), Amako (7), Tsuneoka (8), Orudschijew (9), Kritschewsky (1), Friede (2), Friede und Grünbaum (3)]. 2) enthalten die Erythrozyten einer jeden dieser Tierspezies die heterogene Antigene der anderen 3 Tierarten (die roten Blutkörperchen des Hammels enthalten heterogene Antigene des Huhnes, der Schildkröte und der Katze, die Erythrozyten des Huhnes, heterogene Antigene des Hammels, der Schildkröte und der Katze usw.) [Kritschewsky (1), Friede (2), Friede und Grünbaum (3), Kritschewsky und Messik (4)].

In Anbetracht der immunbiologischen Sonderstellung dieser Tiergruppe war es nun von Interesse, den Gehalt an normalen Hämolysinen des Hammel-, Hühner-, Schildkröten- und Katzenblutes gegen Erythrozyten der Tiere, welche zu derselben Gruppe gehören, zu untersuchen.

Die Frage über das Vorkommen normaler Hämolysine bei den Tieren vom Meerschweinchentypus und Kaninchentypus hat schon verschiedene Forscher interessiert. Friedemann (10) hat das Serum einer ganzen Reihe von Tieren sowohl vom Meerschweinchen (Meerschweinchen, Katze, Hund, Pferd), als auch vom Kaninchentypus (Kaninchen, Mensch, Schwein) auf den Gehalt von normalen Hämolysinen in bezug auf Hammelerythrozyten untersucht und konnte dabei feststellen, daß sozusagen der Gehalt an heterogenem Hammelantigen in den Organen des betreffenden Tieres das Vorkommen von normalen Hämolysinen gegen Hammelerythrozyten in seinem Blute ausschließt.

Rubinstein (11) hatte über diese Frage eingehende Untersuchungen angestellt. Sie untersuchte das Serum von Katze und Hund (Meerschweinchentypus), Kaninchen und Ratte (Kaninchentypus) auf den Gehalt an normalen Hämolysinen in bezug auf die Erythrozyten nicht nur des Hammels, sondern auch des Huhnes, der Schildkröte und der Katze. Sie konnte dabei nicht immer die Angaben von Friedemann bestätigen.

Von denjenigen Tieren, die bei der vorliegenden Frage für mich von Interesse waren, wurden von den erwähnten Autoren nur die Katze untersucht.

Auf Anregung von Frau Privatdozent K. A. Friede untersuchte ich nun das Serum vom Hammel, Huhn und der Schildkröte.

In Anbetracht dessen, daß die Erythrozyten eines jeden dieser genannten Tiere heterogene Antigene der anderen 3 Tierarten enthalten, mußte man annehmen, daß im Serum dieser Tiere keine Hämolysine gegen die Erythrozyten derselben Tiergruppe vorhanden sein müßten. Nach den Angaben von Friedemann und Rubinstein fehlen tatsächlich im Katzenserum normale Hämolysine gegen Hammel-, Hühner- und Schildkrötenerythrozyten.

Ich untersuchte das Serum vom Hammel (5 Tiere), Huhn (12 Tiere) und der

Indessen wissen wir zurzeit nicht, zu welcher Gruppe diese Tiere bezüglich ihrer Organe gehören, ob ihre Organe wirklich heterogenes Hammelantigen enthalten, da festgestellt werden konnte, daß dieses Antigen in den Erythrozyten dieser Tiere vorkommt. Die Immunisierung von Kaninchen, welche dazu vorgenommen worden ist, um die Zugehörigkeit der erwähnten Tierarten entweder zum Meerschweinchen- oder zum Kaninchentypus zu bestimmen, wurde immer mit Organen dieser Tiere vorgenommen, welche nicht ganz frei von Blutspuren waren.

Schildkröte (4 Tiere) auf den Gehalt an normalen Hämolsinen gegen Erythrozyten von Tieren derselben immunbiologischen Gruppe, was die Hauptaufgabe dieser Arbeit war. Außerdem wurde im Serum dieser Tiere sowohl als auch bei der Katze (4 Tiere) gelegentlich der Gehalt an normalen Hämolsinen gegen Erythrozyten anderer Tiere der Meerschweinchengruppe, welche in ihren Erythrozyten keine heterogene Antigene enthalten (Meerschweinchen und Hund), als auch vom Kaninentypus (Mensch¹), Ratte und Kaninchen) untersucht.

Für die Versuche benutzte ich eine $\frac{1}{2}$ Std. bei 56° inaktiviertes Serum, unverdünnt und verdünnt bis 1 : 25. Das Volumen in den Röhrchen betrug immer 0,75 ccm (0,25 ccm Serum in den erwähnten Verdünnungen + 0,25 ccm Komplement 1 : 10 verdünnt + 0,25 ccm einer 5proz. Erythrozytensuspension). Parallel mit den Versuchen wurden folgende Kontrollen angestellt: 1) Kontrollen mit dem Serum ohne Komplement, 2) Kontrollen mit dem Komplement ohne Serum, 3) Kontrollen mit Erythrozyten und physiologischer Kochsalzlösung.

Als Komplement wurde meistens frisches Meerschweinchenserum benutzt; nur selten, beim Arbeiten mit Hühnerserum wurde das Hühnerkomplement gebraucht (1 : 5 verdünnt), da anzunehmen war, daß das Hühnerserum durch Meerschweinchenkomplement nicht reaktiviert werden kann.

In den Versuchen mit Schildkrötenserum wurde manchesmal Froschkomplement (1 : 5 verdünnt) benutzt, da angenommen werden konnte, daß das Warmblüterkomplement für die Aktivierung von Kaltblüterserum ungeeignet sei [Amako (7)].

Die Schildkrötenerythrozyten wurden mit den Kaltblütern isotonischer, 0,6proz. NaCl-Lösung gewaschen.

Bei Versuchen mit Menschenerythrozyten wurde die Gruppe bestimmt, zu welcher die Erythrozyten gehörten, wobei der Versuch mit jeder der 4 Gruppen ausgeführt wurde. Dies geschah deswegen, weil, wie ich schon früher angeführt habe, die roten Blutkörperchen des Menschen mitunter heterogenes Hammelantigen enthalten [Schiff und Adelsberger (12)].

Die Versuchsergebnisse wurden nach 2stünd. Aufenthalt im Brutschrank bei 37° abgelesen. Die Röhrchen blieben gewöhnlich bis zum nächsten Morgen bei Zimmertemperatur stehen und wurden nach 18 Std. noch einmal nachgesehen.

Die Versuche mit Kaltblüterserum (Schildkröte) wurden mitunter nur bei Zimmertemperatur ausgeführt. (Schwarzmann (13) konnte beobachten, daß für die Feststellung von Antikörpern im Kaltblüterserum die Zimmertemperatur geeigneter ist).

Bei den Versuchen mit Hühnerserum wurden die Reagenzgläser mitunter nicht bei 37°, sondern bei 40° digeriert, da nach den Beobachtungen von Ebert (noch nicht publizierte Versuche) die Hämolyse von Menschen- und Hammelerythrozyten mit Hühnerserum bei 40° intensiver vonstatten geht als bei 37°.

Alle diese Modifikationen beeinflussten die Ergebnisse nicht.

Ich konnte bei diesen Versuchen feststellen, daß im Hammelserum keine Hämolsine gegenüber den Hühner-, Schildkröten- und Katzenerythrozyten, im Hühnerserum keine Hämolsine gegenüber Hammel-, Schildkröten- und Katzenerythrozyten und schließlich im Schildkrötenserum keine Hämolsine gegenüber Hammel-, Hühner- und Katzenerythrozyten vorhanden waren.

Infolge der Einförmigkeit dieser Ergebnisse verzichte ich auf die Anführung der betreffenden Protokolle.

Somit wurde unsere Annahme bestätigt, daß im Blute von Hammel, Huhn, Schildkröte und Katze normale Hämolsine gegen Erythrozyten, welche dasselbe heterogene Antigen enthalten und von Tieren stammen, die zur selben Gruppe gehören, nicht vorkommen können. Von Bedeutung ist noch die Tatsache, daß auch gegen Menschenerythrozyten, welche mitunter, wie schon oben erwähnt, heterogenes Hammelantigen enthalten, Hämolsine fehlen.

Versuche mit Meerschweinchen-, Hunde-, Ratten- und Kaninchenerythrozyten zeigten, daß auch gegen diese Erythrozyten im Hammel-, Huhn-, Schildkröten- und Katzenblut keine normalen Hämolsine vorhanden sind.

1) Schiff und Adelsberger (12) konnten zeigen, daß der Mensch bezüglich seiner roten Blutkörperchen nicht immer zum Kaninentypus gerechnet werden kann, weil die zur zweiten Gruppe gehörenden roten Blutkörperchen des Menschen heterogenes Hammelantigen enthalten.

Nur im Hühnerserum konnten in geringer Menge normale Hämolysine gegen Rattenerythrozyten festgestellt werden.

Es scheint, daß die Tiere dieser Gruppen im allgemeinen fast keine normalen Hämolysine besitzen.

Zusammenfassung.

1) Im Hammel-, Hühner-, Schildkröten- und Katzenblut konnten gegen Erythrozyten, welche dasselbe heterogene Antigen enthalten und welche von Tieren stammen, die zu derselben, im immunbiologischen Sinne besonderen Gruppe gehören, keine normalen Hämolysine festgestellt werden. — 2) Auch gegen Erythrozyten anderer Tierarten enthält das Blut dieser 4 Tiere sehr selten normale Hämolysine.

Literaturangaben.

1) Kritschewsky, Journ. of exp. Med. Vol. 24. 1926; Mediz. Obosrenije (russ.) 1917; Nr. 13—16. — 2) Friede, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 96. 1925. — 3) Friede u. Grünbaum, Ztschr. f. Immunitätsf. Bd. 44. 1925. — 4) Kritschewsky u. Messik, Ztschr. f. Immunitätsf. Bd. 52. — 5) Forssman, Biochem. Ztschr. Bd. 37. 1911. — 6) Doerr u. Pick, Ztschr. f. Immunitätsf. Bd. 19. 1913. — 7) Amako, Ebenda. Bd. 22. 1914. — 8) Tsuneoka, Ibid. — 9) Orudschiew, Ibid. Bd. 16. 1913. — 10) Friedemann, Biochem. Ztschr. Bd. 80. 1917. — 11) Rubinstein, Ztschr. f. Immunitätsf. Bd. 50. 1927. — 12) Schiff u. Adelsberger, Ibid. Bd. 40. — 13) Schwarzmann, Ibid. Bd. 51.

Nachdruck verboten.

Neue Kulturschalen.

[Aus der Bakteriologischen Abteilung — serologisches und bakteriologisches Laboratorium — des Reichsgesundheitsamtes.]

Von **H. Dold** und **E. Gildemeister**.

Mit 1 Abbildung im Text.

Die Mitteilung Fortners über sein neues Verfahren der Anaërobenzüchtung (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 89. 1928. S. 286) gab uns die Anregung zu der Idee der neuen Kulturschalen¹⁾, über die wir im Folgenden berichten möchten:

Ausgehend von der bekannten Tatsache, daß Anaërobier in Mischkultur mit aeroben Keimen gut wachsen, verfährt Fortner bei seiner Methode der Anaërobenzüchtung so, daß er den Nährboden einer Petri-Schale durch Ausschneiden eines Nährbodenstreifens in der Mitte der Schale in 2 Hälften teilt, die eine Hälfte des Nährbodens mit einem Aërobier, die andere mit dem zu züchtenden Anaërobier beimpft, die Schale schließt und mit Plastilin abdichtet. Im Brutschrank verzehrt dann der Aërobier bei seinem Wachstum den vorhandenen O und schafft so die Vorbedingungen für das Wachstum des Anaërobiers.

Es schien uns nun zweckmäßiger, die Trennung des Nährbodens in 2 Hälften statt durch jedesmaliges Herausschneiden eines Nährbodenstreifens dadurch zu erreichen, daß die Kulturschale selbst in 2 Hälften geteilt wird, wie es die Fig. 1a zeigt. Eine derartig halbierte Schale bietet gegenüber dem Fortnerschen Verfahren den weiteren Vorteil, daß in die beiden Hälften der Kultur-

¹⁾ Die Kulturschalen werden von der Firma Paul Altmann, Berlin NW., Luisenstr., hergestellt.

schale verschiedene Nährböden gegossen werden können, also z. B. ein optimaler Nährboden, etwa Agar, für den Aërobier, und ein optimaler Nährboden, etwa Traubenzuckerblutagar, für den zu züchtenden Anaërobier.

Ueber diesen engeren Zweck der Anaërobienzüchtung hinaus dürfte aber unserem Vorschlag, halbierte und eventuell gevierteilte Kulturschalen (s. Fig. 1 b) zu verwenden, eine weitere und größere Bedeutung zukommen. Häufig ist bekanntlich die in einer Petri-Schale enthaltene Nährbodenmasse für den zu untersuchenden Krankheitsfall oder für den gerade vorliegenden sonstigen bakteriologischen Zweck unnötig groß. In der bakteriologischen Praxis wird deswegen vielfach der Nährboden einer Petri-Schale durch Anbringen von Teilungsstrichen an der Unterfläche der Schale in verschiedene Abteile getrennt. Die Verwendung von halbierten und eventuell gevierteilten Kulturschalen macht derartige Maßnahmen überflüssig und bietet den weiteren Vorteil, daß verschiedenartige Nährböden in ein und derselben Kulturschale verwendet werden können. Man kann also in einer halbierten oder gevierteilten Kulturschale nicht bloß 2 bzw. 4 Untersuchungen gleichzeitig ausführen, sondern man kann auch ein Untersuchungsmaterial in einer Kulturschale zugleich auf 2 bzw. 4 verschiedenen, diagnostisch wertvollen Nährböden austreichen

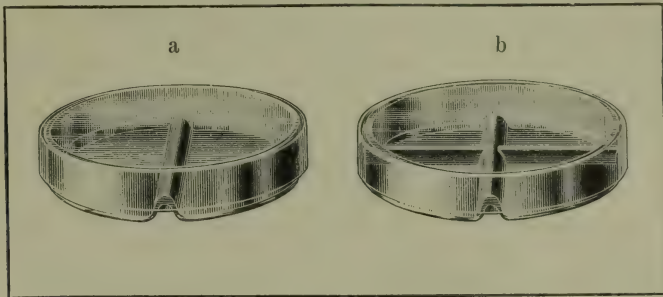


Fig. 1.

und züchten. Auch wenn es sich darum handelt, ein Ausgangsmaterial, z. B. typhusverdächtigen Stuhl mit dem Glasspatel hinter einander zum Zwecke der Verdünnung auf mehrere Kulturplatten auszustreichen, werden — bei Verwendung entsprechend kleinerer Glasspatel und kleineren Ausgangsmaterials — unsere halbierten und gevierteilten Kulturschalen großen Formates mit Nutzen gebraucht werden können. Schließlich scheinen uns derartige Kulturschalen, wie wir sie hier beschrieben haben, auch für Demonstrationszwecke recht geeignet, wenn es sich darum handelt, das Verhalten eines Mikroben auf verschiedenen Nährböden zu zeigen.

Es bedarf keiner weiteren Begründung, daß es für die bakteriologischen Anstalten eine wesentliche Ersparnis an Arbeit bedeutet, wenn es gelingt, 2 oder gar 4 Untersuchungen auf einer Kulturschale zu erledigen. Diese Arbeitsersparnis betrifft nicht bloß das wissenschaftliche, mit der Vornahme der Untersuchungen betraute Personal, sondern viel mehr noch die mit der Reinigung und Wiederinstandsetzung der Materialien beschäftigten Arbeitskräfte. Eine Verminderung der Zahl der für die täglichen Untersuchungen notwendigen Kulturschalen bedeutet auch eine Platzersparnis, die überall dort angenehm empfunden werden wird, wo die vorhandenen Brutschränke und Bruträume zur Bewältigung des täglich zu bebrütenden Materials oft kaum ausreichen.

Wir glauben deshalb, daß die von uns vorgeschlagenen Kulturschalen wegen des dreifachen Vorteils der Materialersparnis, der Arbeitsersparnis und der Platzersparnis Beachtung verdienen. Die halbierten Kulturschalen eignen sich außerdem noch zur Anaërobenzüchtung nach Fortner.

Nachdruck verboten.

Bemerkungen zu der Arbeit von W. Blumenberg „Ueber den Indoltiter nach Gersbach zur Begutachtung von Wasserproben“

im Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 107. Heft 6/7.

[Aus dem Städt. Hygienischen Universitäts-Institut Frankfurt a. M.]

Von **M. Neisser**-Frankfurt a. M.

Das Gebiet der Indolreaktion ist, seitdem mein damaliger Chef Paul Ehrlich mir die Anregung gab, die von ihm für den Indolnachweis im Urin angegebene Reaktion für das bakteriologische Gebiet zu bearbeiten, zu einem Thema geworden, über das seit mehr als 20 Jahren von hier aus Veröffentlichungen erschienen sind. Ich darf mich wohl deshalb mit Recht für die von W. Blumenberg beanstandeten Mitteilungen von A. Gersbach und R. Kopp verantwortlich fühlen. Ich gebe am Schluß eine Literaturliste unserer Arbeiten über das ganze Coli- und Indolgebiet, weil diese Arbeiten an verschiedenen Stellen, teilweise auch gar nicht im Druck erschienen sind, die letzte Zusammenstellung aber in einem Aufsatz von mir 1921, Münchener med. Wochenschr. S. 1384 natürlich überholt ist. In einer Reihe dieser Arbeiten ist nicht nur einiges vom Wesen der I. R.; sondern auch über die Technik der Reaktion gesagt, die leider nicht so einfach ist, wie sie zunächst erscheint. So ist z. B. mehrfach betont, daß ein Erhitzen der Probe nicht zweckmäßig ist, während Bl. bei seinen Reaktionen von allen Uebergängen „von eben angedeutetem erst nach Erwärmen auftretendem roten Schimmer“ spricht; es ist ferner mitgeteilt worden, daß es gar nicht so einfach zu sein braucht, von einem Stamme sagen zu können, daß er kein Indol bilde.

Dazu muß man ihn nämlich nach etwa 6, 12 und 18 Std. prüfen, da es Stämme gibt, bei denen eine I. R. auftritt, die aber nach wenigen Std. wieder verschwinden kann. Auch von störenden Einflüssen (Nitriten, Zuckerarten (Pferdefleisch!)) ist berichtet worden. Dazu kommt, daß die gewöhnlichen Pepton-Fleischwasser-Nährböden zu arm an Tryptophan sind, daß es aber nicht zweckmäßig ist, den Peptongehalt auf 10 Proz., wie angegeben worden war, zu erhöhen, sondern daß die tryptische Verdauung (Friebers Trypsinbouillon) das Zweckmäßigste ist. Am schwierigsten war die Beschaffung gleichmäßig guter Ausgangssubstanzen für das Reagenz, denn das Reagenz muß zwar sehr empfindlich sein, darf aber nicht mit allerhand Bouillonstoffen bereits Verfärbungen uncharakteristischer Art geben. Trotz aller entgegenstehenden Bedenken habe ich mich dann dazu entschlossen, die ständige Kontrolle eines Handelspräparates der Firma Dr. G. Grübler & Co., Leipzig, Liebig-Straße 1—1b zu übernehmen.

Erst seit dieser Zeit ist eine gewisse Einheitlichkeit in den Ergebnissen, wenigstens der deutschen Autoren, zu konstatieren. Aber freilich ist das fertige Reagenz immer noch recht subtil; wir halten es dauernd im Eisschrank und erneuern es am 1. jeden Monats. Allerdings stehen in den Lehr- und Handbüchern des In- und Auslandes noch viele unzutreffende Ansichten über die I.-R., weil in der Literatur Kronzeugen für allerhand abweichende Ansichten leicht zu finden sind. Ich will dabei nicht von der „schwachen“ I.-R. sprechen, die bei Diphtheriebazillen, Pestbazillen usw. in Lehrbüchern angegeben und die ausschließlich auf technische Unzulänglichkeiten zu beziehen ist, sondern ich will

nur von der häufigsten Bemerkung sprechen, daß nämlich die I.-R. recht interessant, aber doch inkonstant und eigentlich wenig brauchbar sei. Umso wertvoller ist es mir gewesen, daß in dem neuen im Reichsgesundheitsamt ausgearbeiteten Schema zur Erkennung der Paratyphus-B-Bazillen die I.-R. einen behördlich anerkannten Platz gefunden hat¹⁾.

Mit der hier ausgearbeiteten Methode haben wir uns zunächst darüber zu vergewissern gesucht, ob die Eigenschaft mancher Stämme, Indol zu bilden, eine konstante oder eine sehr schwankende biologische Eigenschaft sei. Wir haben uns lange Zeit Mühe gegeben, den Stämmen die Indolbildung anzugewöhnen oder abzugewöhnen, und wir haben auch mancherlei modifizierte Stämme auf Indolbildung geprüft. Das Ergebnis habe ich schon 1921 dahin zusammengefaßt, daß nach meiner Meinung die Indolbildung (und auch die Nichtbildung von Indol) eines der konstantesten biologischen Merkmale sei. Das freilich lag uns fern, zu behaupten, daß alle Warmblüter-Darm-Coli Indol bildeten, und in dieser Hinsicht hat Herr Bl. nichts Neues gesagt. Denn wir waren es schließlich, die die Phenolbildung von Neuem untersucht und dabei gesehen haben, daß die Phenologenes-Arten beim Menschen, bei den Haustieren und den wilden Tieren recht verbreitet sind, daß aber die Phenologenes niemals Indol bilden (im Gegensatz z. B. zu den Pasteurella-Arten, von denen viele sowohl Indol wie Phenol bilden); aber wir fanden doch, wie auch in der (nur im Manuskript 1922 erschienenen) Inaug. Dissertation der Naturwissenschaftl. Fakultät Frankfurt a. M. von E. Koenig mitgeteilt ist, daß die häufigste Coli-Art des Darmes das *Bacterium coli mobile indolicum aphenologenes*, genannt *Bact. coli commune* sei (s. auch Magalhaes, Comp. rend. soc. biol. 1924. Bd. 91. S. 234. 1290 Stämme mit etwa 99 Proz. I.-R. +!)

Uebrigens muß man nach unserer Erfahrung bei jedem Coli oder Paracoli anindolicum mit der Möglichkeit rechnen, daß es sich dabei um einen Phenologenes-Stamm handelt. Das gilt vielleicht auch für das von Bl. beschriebene „typische *Bact. coli anindolicum*“.

Bl. gibt ferner an, daß bei Verimpfung von Reinkulturen mit *Bact. coli* in steriles Leitungswasser in einzelnen Fällen nach einigen Wochen das Indolbildungsvermögen der herausgezüchteten Stämme verschwunden sein kann, trotzdem die Stämme noch lebendig sind und bei weiteren Passagen ihr Indolbildungsvermögen sehr bald wieder gewinnen. Das mag sein, und es wird gut sein, weitere Versuche in dieser Richtung anzustellen. Hier hat vor einiger Zeit Dr. Kemkes Versuche mit verschiedenen Mineralwässern gemacht, in die wir ebenfalls aus bestimmten Gründen indolbildende Coli-Stämme verimpften. Dabei haben wir ebenfalls gesehen, wie in verhältnismäßig kurzer Zeit die Coli-Bazillen zugrunde gingen, haben aber den Bl.schen Befund nicht erlebt.

Für die Bewertung unserer Methode hat das Ergebnis von Bl. nichts zu sagen; es würde doch bestenfalls nur bedeuten, daß wir einen Coli-Stamm, der einmal ins Wasser gekommen und dort einige Wochen sich aufgehalten hat, nicht finden. Als ob es darauf so sehr ankäme.

Bei dem Indoltiter nach Gersbach (oder Fäkaliter, wie ich ihn späterhin absichtlich manchmal genannt habe), handelt es sich aber nicht sowohl nur um „reine“, als vielmehr um „angewandte“ Bakteriologie, und die Einwände von Bl. beziehen sich wohl auch hauptsächlich gegen diese Anwendung. Machen wir uns dazu das Anwendungsgebiet klar. Für Quellen und Grundwasserbrunnen ist uns der Befund des *Bact. coli* ein Wegweiser, anzeigend, daß für dieses Stuhlbakterium ein Weg offen ist, der gelegentlich auch einmal für sehr

1) Mein Name aber hat mit der Reaktion direkt nichts zu tun; sie muß m. E. in der jetzigen Form heißen: I.-R. nach Ehrlich-Frieber.

viel unsympathischere Darmbakterien gangbar sein kann. Es ist doch anerkannt, daß manche Brunnen und Quellen, die bei seltenen Untersuchungen als völlig dicht erscheinen, zumal auch dann dicht erscheinen, wenn nur Gesamtwasser großer Leitungsstränge untersucht wird, sich gelegentlich als undicht erweisen, wenn sie unter den verschiedensten meteorologischen Verhältnissen dauernd und oft untersucht werden. Als eine solche einfache und billige Methode, die — bei geeigneter Organisation — durch angelerntes Personal als Vorprüfung an Ort und Stelle ausgeführt werden kann, habe ich 1927 in Kassel und zuletzt in einem Referat am 15. Juni 1928 auf der Hamburger Tagung des Deutschen Vereins von Gas- und Wasserfachmännern den Indoltiter immer wieder empfohlen. Was kann nun daraus entstehen, daß diese einfache Vorprüfung vielleicht einmal nach dieser oder jener Seite versagt? Im einen Falle wird „Undichtigkeit“ gefunden, die durch eine wiederholte und eingehende Untersuchung in dem Sinne nicht bestätigt wird, daß das *Bact. coli* die Ursache der I.-R., so daß also eine „Darmbakterien-Undichtigkeit“ nicht erweislich war. Da es sich um eine Vorprüfung handelt, schadet dieser blinde Lärm, den ich erlebt habe, nicht viel. Der andere Fall, daß eine solche Undichtigkeit besteht, aber nur anindolisches *Bact. coli* eingewandert sei, nicht aber jenes soviel reichlichere indolbildende *Coli* (nach Bl. eigenen Angaben hat er ja nur 6—7 Proz. der *Coli*-Stämme anindolisch befunden) ist doch wohl nur ein konstruierter Fall; jedenfalls wird man annehmen dürfen, daß bei Wiederholungen dieser Vorprüfung (und ich habe ja immer wiederholte Untersuchungen gefordert) wohl doch auch das indolbildende *Coli* erscheinen wird. Soll man wirklich wegen dieser beiden Möglichkeiten eine Probe ablehnen, welche die Betriebe recht gern in eigener Regie ausführen und die ihnen durch ihre Eigenart im positiven Falle einen recht großen Eindruck macht? Und soll man wegen dieser Einwände ein so viel umständlicheres, kostspieligeres, an Ort und Stelle nicht ausführbares Verfahren empfehlen?

Aber der Nutzen dieser Probe geht weiter und beschränkt sich nicht auf die Vorprüfung „an Ort und Stelle“. Wir verwenden die I.-R. nach Anreicherung auch in unserem Laboratorium als Vorprüfung und schließen dann allerdings nach Kopp die weitere Identifizierung an. Wenn wir z. B. die Chlorierungsanlage großer Badeanstalten zu prüfen haben, so wissen wir durch vielfältige Untersuchung, daß das Bassinwasser nach kurzem Gebrauche reichliche Mengen des indolbildenden *Coli* enthält. Wenn das chlorierte Wasser, das wieder ins Becken geht, auch nach Anreicherung von 30 cm diese positive Indolreaktion nicht gibt, so sind wir über die keimtötende Wirkung der Chloranlage genügend unterrichtet (alle anderen Gesichtspunkte stehen hier nicht zur Erörterung). Diese Probe ist so billig, daß die Anstalten sich aus wirtschaftlichen Gründen nicht dagegen wehren können.

Wir benutzen unsere Probe auch zur Feststellung, ob ein Pasteur-Apparat in einer Molkerei richtig arbeitet, denn er muß doch eben Keime von der Resistenz des *Bact. coli* mit Sicherheit abtöten, und zwar jedesmal, wenn wir prüfen. In der Milch sind aber die indolbildenden *Coli*-Arten so reichlich, daß wir mit dieser Probe ohne Fehler arbeiten dürfen. Auch hier schließen wir freilich im positiven Falle die Kopp'sche Prüfung der Vergärung von Zuckeragar bei 45° an. Dasselbe gilt von der Prüfung der Flaschenreinigung in einer Molkerei. Auch hier dürfen indolbildende *Coli* nicht nachweisbar sein. Indolbildende *Coli* in Joghurt zeigen an, daß irgendeine Phase des Prozesses nicht in Ordnung ist, denn die Flaschen müssen genügend gesäubert sein und die Milch muß bekanntlich zur Joghurtbereitung gekocht, also colifrei sein. Sind die von Bl. vorgebrachten Einwände stark genug, um uns zu veranlassen, an Stelle unserer einfachen Vorprüfung das viel kompliziertere Identifizierungsverfahren zu setzen?

Zuzugeben ist ohne weiteres, daß die Coliprobe auch in falscher Beziehung verlangt und angewendet wird. Auch wir bekommen nicht selten Wasserproben bei denen man aus dem einmaligen Ergebnis einer Untersuchung auf *Bact. coli*, womöglich auch aus der Zahl, Schlüsse ziehen möchte; in solchen Fällen ist es für die Sache ziemlich gleichgültig, ob das *Bact. coli* nach allen Regeln der Kunst diagnostiziert wird, oder ob man abgekürzte Verfahren anwendet. Denn es kommt dabei hauptsächlich auf die begleitende Äußerung an, nicht allein auf den bakteriologischen Befund, dessen Bedeutung ja doch häufig falsch eingeschätzt wird.

Eine Gefahr für die falsche Anwendung unserer Reaktion besteht allerdings und ich selbst habe gerade in Hamburg wiederum nachdrücklich darauf hingewiesen. Wenn nämlich eine „Coliprobe“ zur Unterlage für das Eingreifen der Aufsichtsbehörde gemacht werden soll, dann freilich muß der bakteriologische Nachweis vollständig sein und kann nicht ausföhrlich genug geschehen. Was das bedeutet, wird jeder Bakteriologe verstehen, Bürger spricht es im Gesundheits-Ingenieur 1927 und 28 sehr deutlich aus. Denn die Behörde darf selbstverstündlich ihre eingreifenden Verfügungen nur auf völlig sicherer Grundlage aufbauen. Dann freilich verlange ich auch das vollständige Nachweisverfahren, und nicht irgendein abgekürztes. Für diese Zwecke haben wir unsere Methode niemals angegeben, es steht auch hier nicht zur Erörterung, ob überhaupt irgendeine Coliprobe zur Grundlage für eingreifende behördliche Maßnahmen geeignet ist. Ich würde es für einen schweren Fehler halten, wenn etwa jetzt Kreisärzte an ihre Medizinal-Untersuchungsstellen Wasserproben zur Feststellung von *Bact. coli* schicken würden, um dann daraufhin wichtige Maßnahmen zu verfügen, gleichgültig, ob dann der Nachweis mittels der Abblasmethode, der Anreicherungsmethode mit nachfolgender Identifizierung, der Eijkmann—Bulir Methode oder unserer Methode (Gersbach-Kopp) erfolgt.

Ich komme also trotz der Uebereinstimmung in den „rein“ bakteriologischen Fragen über das Vorkommen und das Nichtvorkommen der Indolbildung bei den Darm-Coli-Arten hinsichtlich der Anwendung unserer auf den Indolnachweis nach Anreicherung beruhenden Vorprüfung (sei es für angelehtes Personal an Ort und Stelle, sei es zur Ausscheidung der überwiegenden negativen Ergebnisse im Hauptlaboratorium) dazu, diese billige und ausreichende Vorprüfung zu empfehlen:

a) für die Fälle, in denen es sich darum handelt, durch wiederholte Untersuchungen Klarheit darüber zu gewinnen, ob zu einem Brunnen oder einer Quelle ein Weg besteht, auf dem Darmbakterien in das Wasser gelangen können, oder ob eben ein solcher Weg nicht nachweisbar ist,

b) für die dauernden und oft wiederholten Feststellungen, ob eine Maßnahme, welche bestimmt ist, gewisse pathogene Darmbakterien abzutöten, diese Wirkung, gemessen an dem reichlich vorhandenen indolpositiven Coli, auch wirklich hat.

Es ist mir wohl bekannt, daß es andere Methoden gibt, um eine sachgemäße Chlorierung oder eine sachgemäße Pasteurisierung usw. zu kontrollieren, das steht aber hier nicht zur Erörterung. Hier steht nur das Verfahren, welches B1. empfiehlt (welches übrigens in der Welt durchaus nicht das häufigste Verfahren dieser Art ist), gegen das von uns empfohlene Verfahren, gegen welches B1. Einwendungen vorgebracht hat. Es ist das Schicksal der „reinen“ Bakteriologie, daß sie sehr vielen medizinischen, naturwissenschaftlichen, landwirtschaftlichen, technischen Stellen nur noch in Form der „angewandten“ Bakteriologie bekannt ist. Unsere Aufgabe muß es dann sein, auf Grund genauer bakteriologischer Kenntnisse abgekürzte und anwendbare Methoden zu schaffen, deren Grundlage

und deren Ziel von uns bezeichnet sein muß, wenn anders wir nicht die Führung ganz verlieren sollen. Ich halte unsere Vorprüfung, wie sie A. Gersbach und R. Kopp mitgeteilt haben, nach wie vor für empfehlenswert, wenn sie richtig angewendet wird.

Literatur.

Altmann, K., Komplementbindung und Agglutination bei der Paratyphus-, Typhus- und Coli-Gruppe. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 54. S. 174). — Altmann, K. u. Rauth, A., Experimentelle Studien über Erzeugung serologisch nachweisbarer Variationen beim *Bacterium coli*. (Ztschr. f. Immunitätsf. Bd. 7. 1910. S. 629). — Gins, H. A., Beitrag zur Technik der Coli-Untersuchung von Trinkwässern mit besonderer Berücksichtigung filtrierter Oberflächenwässer. (Veröffent. a. d. Geb. d. Med.-Verw. Bd. 3. 1913. S. 199). — Frieber, W., Zum Nachweis von Phenol in Bakterienkulturen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 86. 1921. S. 58). — Kürschner, Beiträge zur Indolbildung. (Tierärztl. Inaug. Diss. 1921). — Frieber, W., Ueber Selbstbereitung von bakteriologischer Peptonlösung und über Trypsinbouillon zur Prüfung auf indolbildende Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 86. 1921. S. 424). — Neisser, M., Ueber Indol- und Phenolbildung durch Bakterien. (Münch. med. Wochenschr. 1921. S. 1384). — Frieber, W., Beiträge zur Frage der Indolbildung und der Indolreaktionen sowie zur Kenntnis d. Verhaltens indolnegativer Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 87. 1921. S. 254). — Beydemüller, F., Ueber das Vorkommen natürlich-malachitgrüner Coli-Stämme im Darms gesunder Säugetiere. (Tierärztl. Inaug. Diss. 1922). — Sieke, F., Phenolbildung durch Bakterien. (Ztschr. f. Hyg. Bd. 94. 1921. S. 214). — König, Welche Differenzierungsmethoden eignen sich zur Systematisierung der Bact. Coli-Arten des Menschen. (Inaug. Dissertat. 1922). (Nicht in Druck erschienen). — Gersbach, A., Der Nachweis fäkaler Wasserverunreinigung mittels der Indolprobe. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 88. 1922. S. 145). — Laux, H., Die Phenolbildung durch tierpathogene Bakterien und durch Saprophyten des Darminhaltes verschiedener Tierarten. (Tierärztl. Inaug. Diss. 1922). — Fried, E., Weitere Untersuchungen über phenolbildende Bakterien. (Inaug. Diss. 1921). (Nicht im Druck erschienen). — Gersbach, A., Der Nachweis des *Bacterium coli* im Trinkwasser. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 58. 1923. S. 412). — Neisser, M., u. Frieber, W., Indol- und Phenolbildung durch Bakterien. Handb. d. mikrobiol. Technik Kraus-Uhlenhuth. S. 1245. — Gersbach, A., Ueber die Prüfung der Chlorierungsanlage des Frankfurter Hallenschwimmbades. (Gesundheits-Ingenieur. 1924. H. 8). — Klieneberger, E., Künstliche Gewinn- und Verluständerungen im Salizin- (bzw. Arbutin-) Vergärungsvermögen eines Coli-Bacteriums in besonders ausgedehnten Versuchsreihen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 101. 1927. S. 461). — Kopp, R., Ergänzung des Gersbachschen „Fäkaliters“ zur sicheren Feststellung von *Bact. coli* im Wasser. (Ebenda. Abt. II. Bd. 71. 1927. S. 267). — Neisser, M., Eine einfache bakteriologische Untersuchung von Grundwasser und Quellwasser als häufig an Ort und Stelle auszuführende Vorprüfung. (Das Gas- und Wasserfach. 1927. S. 1043). — Ders., Bedeutung des Coli-Befundes bei Grundwasser- und Quellwasserversorgungen. (Im Druck).

Nachdruck verboten.

Ueber Aeskulin-nährböden.

[Aus der Bakteriologischen Mitteilung des Rudolf Virchow-Krankenhauses in Berlin.]

Von Kurt Meyer.

Mit H. Schönfeld habe ich gezeigt¹⁾, daß die Fähigkeit der Aeskulin-spaltung ein ausgezeichnetes differentialdiagnostisches Merkmal zur Unterscheidung der Enterokokken vom *Streptococcus viridans* darstellt, da sie den Enterokokken nahezu ausnahmslos zukommt, während sie den Viridans-Streptokokken ebenso regelmäßig fehlt.

Wir prüften auf diese Eigenschaft mittels des Nährbodens von Harrison und Vanderleck²⁾, der auf 100 ccm Wasser 1,5 g Pepton, 0,5 g Natr.

1) Kurt Meyer u. H. Schönfeld, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 99. 1926. S. 402.

2) F. C. Harrison u. Vanderleck, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 22. 1909. S. 547.

taurocholic., 0,5 g Aeskulin und 0,05 g Ferrizitrat enthält. In diesem Nährboden gibt sich die Abspaltung der aromatischen Komponente Aeskuletin aus dem Glykosid Aeskulin durch Schwärzung in sehr sinnfälliger Weise zu erkennen.

Mit längerer Erfahrung haben sich einige Unzuträglichkeiten dieses Nährbodens gezeigt. Zunächst beobachteten wir nicht selten, daß das Wachstum von Viridans-Streptokokken sehr kümmerlich war oder ganz ausblieb, so daß ein Urteil über ihr Spaltungsvermögen nicht möglich war. Wir glaubten zunächst, daß der Zusatz des Natriumtaurocholats, das ja nicht nur auf Pneumokokken, sondern auch auf Viridans-Streptokokken, allerdings ohne sie aufzulösen, schädigend wirkt, die Ursache sei. Doch auch als wir das Taurocholat fortließen, wurden die Ergebnisse nicht wesentlich besser. Offenbar war das Peptonwasser ein zu nährstoffarmes Medium für manche anspruchsvollere Viridans-Stämme. Wir gingen deswegen dazu über, gewöhnliche Nährbouillon mit Aeskulin- und Eisenzusatz zu verwenden und erzielten hierdurch auch fast ausnahmslos ausreichendes Wachstum.

Noch störender war jedoch ein anderer Uebelstand des Nährbodens. Wir sahen bisweilen typische Enterokokkenstämme, die keine Schwarzfärbung zeigten, und zwar machten wir diese Beobachtung bei manchen Nährbodenabfüllungen in gehäufte Zahl. Wir vermuteten, daß Eisenmangel die Ursache dieser Erscheinung sei, und in der Tat trat bei Zusatz eines Tropfens Eisenlösung zu den 24 Std. bebrüteten Röhrchen sofort die typische Schwärzung ein.

Offenbar erfolgt bei der Herstellung und Sterilisierung des Nährbodens eine gegenseitige Ausfällung der Fe-Ionen und der Proteosen des Peptons, die sich auch in der beim Sterilisieren oft eintretenden Trübung zu erkennen gibt. Dadurch wird einerseits der Nährboden eisenarm oder eisenfrei, und andererseits wird sein Nährstoffgehalt vermindert, so daß wohl auch hierauf zum Teil das kümmerliche Wachstum der Viridans-Streptokokken zu beziehen ist.

Wir verwenden daher seit längerer Zeit eine 0,2proz. Aeskulin enthaltende gewöhnliche Bouillon, die wir erst nach 24stünd., nötigenfalls auch nach 48stünd. Wachstum mit einem Tropfen stark verdünnter Eisenzitrat- oder -chloridlösung versetzen. War von den Bakterien das Aeskulin gespalten worden, so tritt augenblicklich Schwarzfärbung ein.

Außerdem möchten wir aber auch den nach dem Hissschen Prinzip hergestellten Aeskulin-Serumwasser-Lackmusnährboden empfehlen, wie ihn bereits Spanier¹⁾ auf unsere Veranlassung bei seinen Untersuchungen über das Glykosidspaltungsvermögen der Enterokokken und Streptokokken benutzt hat. (Serum 1 Teil, Aq. destill. 2 Teile, Aeskulin 0,2 Proz., Lackmustinktur 8 Proz.).

In diesem Nährboden gibt sich die Spaltung des Aeskulins an der Säurebildung zu erkennen, die aus der frei gewordenen Glukose erfolgt. Die Säure bewirkt Rötung des Lackmusfarbstoffes und Ausfällung des denaturierten Serumeiweißes. Ein weiterer Vorteil ist, daß an dem zur Erstarrung gebrachten Nährboden infolge Behinderung der Sauerstoffdiffusion die Reduktionswirkung, die für die Enterokokken charakteristisch ist, dem ihnen ähnlichen, kürzlich von Löwenberg²⁾ aus meinem Laboratorium beschriebenen Typus der „Pharyngokokken“ aber ebenso wie den Viridans-

1) F. Spanier, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 105. 1928. S. 1.

2) W. Löwenberg, Klin. Wochenschr. 1928. S. 1170.

Streptokokken fehlt, leicht beobachtet werden kann. Sie zeigt sich darin, daß der Nährboden von unten her entfärbt wird und daß nur eine mehr oder minder schmale Oberflächenschicht rot gefärbt bleibt, die sich von dem übrigen elfenbeinweiß erstarrten Nährboden abhebt. Damit die Reduktionswirkung deutlich zum Ausdruck kommt, ist es erforderlich, daß die Höhe der Flüssigkeitssäule mindestens das doppelte des Durchmessers erreicht.

Will man bei diesem Nährboden auch noch das zweite Produkt der Aeskulin-spaltung, das Aeskuletin, nachweisen, so genügt es, einen Tropfen verdünnte Eisenlösung zuzusetzen; es tritt dann auch an dem erstarrten Nährboden sofort Schwärzung ein.

Der Aeskulin-Serumwasser-Lackmusnährboden vereinigt somit mehrere Vorzüge und dürfte daher für die laufende Laboratoriumspraxis besonders zu empfehlen sein. Bemerken möchten wir noch, daß für den Fall, daß Aeskulin nicht zur Verfügung steht, nach unseren bisherigen Erfahrungen in gleicher Weise ein Arbutin-Serumwasser-Lackmusnährboden verwandt werden kann. Nur ist bei diesem das Freiwerden der aromatischen Komponente nicht in so einfacher Weise erkennbar wie beim Aeskulin; man muß sich vielmehr mit dem Nachweise der Säurebildung aus der abgespaltenen Glukose begnügen. Die Reduktion ist natürlich auch bei diesem Nährboden erkennbar.

Inhalt.

- Brekenfeld**, Gebrauchen wir ein einheitliches umfassend polyvalentes Paratyphusserum? S. 225.
- de Buck, A., Schoute, E., u. Swellengrebel, N. H.**, Studien über Anophelismus ohne Malaria in der Umgebung Amsterdams. Mit 11 Abbildungen im Text und 1 Tafel. S. 251.
- Dold, H., u. Gildemeister, E.**, Neue Kulturschalen. Mit 1 Abbild. im Text. S. 344.
- Elbert, B. J., u. Gerkes, W. M.**, Ueber die Wirkung der Galle auf Sklerombazillen. S. 310.
- Eksempljarskaja, E. W.**, Ueber normale Hämolyse bei Tieren, die in ihren Erythrozyten heterogene Antigene enthalten. S. 341.
- Gmeiner, F.**, Ueber die Wertbestimmung des Milzbrandserums nach Al. Lusztyg. S. 247.
- Groß, Hans**, Untersuchungen über die Rolle der Individualität und deren mögliche Beeinflussung durch oral gegebene Lipide für die Hämolysebildung bei Kaninchen. S. 339.
- Kathe**, Das sogen. Schlammfieber in den Jahren 1926 und 1927. Beiträge zur Symptomatologie, Epidemiologie, Pathologie und Aetiologie. Mit 5 Abbildungen im Text und 3 Tafeln. S. 284.
- Kljujewa, N. G., u. Kaschajewa, A. A.**, Zur Aetiologie der epidemischen Grippe. S. 232.
- Meyer, Kurt**, Ueber Aeskulin-nährböden. S. 350.
- Neisser, M.**, Bemerkungen zu der Arbeit von W. Blumenberg „Ueber den Indoltiter nach Gersbach zur Begutachtung von Wasserproben“. S. 346.
- Nieschulz, Otto**, Zoologische Beiträge zum Surraproblem. XXII. Uebertragungsversuche mit *Anopheles fuliginosus* Gil. S. 327.
- Regendanz, P.**, Ueber die Bedeutung der Milz bei der Spirochäteninfektion. S. 321.
- Riddell, W.**, Gordiidae as parasites of man. S. 331.
- Seiffert, G., Jahneke, A., u. Arnold, A.**, Zeitliche Untersuchungen über den Ablauf übertragbarer Krankheiten. I.—III. (Mäuse typhus.) Mit 22 Abbildungen im Text. S. 193.

Ausgegeben am 4. Dezember 1928.

Nachdruck verboten.

Ueber den anaëroben Verwendungsstoffwechsel der Coli- und Paratyphus-B-Bazillen.

II. Mitteilung.

[Aus der bakteriologisch-hygienischen Abteilung des Städtischen Hygienischen Universitäts-Instituts in Frankfurt a. M.]

Von **H. Braun** und **R. Goldschmidt**.

In den letzten Jahren sind über die Vorgänge bei der Gärung durch Mikroorganismen wichtige Untersuchungen von C. Neuberg und seinen Mitarbeitern, von Aubel und Salabartan, Berthelot, J. Hirsch Quastel, Marjory Stephenson und Margaret Dampier Whethan, Rona und seinen Mitarbeitern veröffentlicht worden. Diese Arbeiten beschäftigen sich in erster Linie mit dem Chemismus der Gärung. Von diesen Autoren wurde unter anderen Mikroorganismen auch das *Bacterium coli* untersucht.

Uns schien es notwendig zu sein, sich in Fortsetzung unserer früheren Arbeiten mit dem anaëroben Verwendungsstoffwechsel des Coli-Bazillus und Paratyphus-B-Bazillus eingehender zu beschäftigen, um einiges darüber zu erfahren, welchen Fähigkeiten diese Mikroorganismen die Möglichkeit, im Darm zu gedeihen, verdanken. Herrschen doch im Darm praktisch anaërobe Verhältnisse. Wir möchten über diese Versuche im Folgenden berichten.

Wir untersuchten den anaëroben Verwendungsstoffwechsel der Coli- und Paratyphus B-Bazillen mit Hilfe von hohen Schichten in Kieselsäurenährböden. Diese Methode, die wir in der I. Mitteilung schilderten, hat den Vorteil, daß hier gleichzeitig der aërobe und anaërobe Verwendungsstoffwechsel studiert werden kann.

Zunächst möchten wir über das Verhalten eines Stammes von Colibazillen berichten. Dieser führte die Bezeichnung Coli Nr. 14. Es handelte sich um einen alten Laboratoriumsstamm, der aus menschlichem Stuhl gezüchtet war und typisches morphologisches und kulturelles Verhalten zeigte: gramnegative, bewegliche Stäbchen, Traubenzucker- und Milchzucker-Vergärung, Indol positiv, Lackmusmolke intensiv rot und trüb, keine tryptische und kollolytische Wirkung. Dieser Stamm wurde im flüssigen Milchsäure-Ammoniak-Nährboden folgender Zusammensetzung unter aëroben Verhältnissen gezüchtet:

NH_4Cl	0,5 g
Na_2SO_4	0,5 g
MgSO_4	0,01 g
KH_2PO_4	0,05 g
K_2HPO_4	0,15 g
Natriumlaktat	0,5 g
Aqua bidest. ad	100 cem.

Zur Anstellung der Versuche über den anaëroben Verwendungsstoffwechsel wurden stets aërobe Kulturen in synthetischen Nährböden benützt. Niemals wurden Bouillonkulturen oder Agarzuchten dazu verwendet.

Im Folgenden wollen wir, um uns kurz ausdrücken zu können, die Nährlösungen nur nach ihrer Kohlenstoff- und Stickstoffquelle bezeichnen. Wenn

wir z. B. von einem Milchsäure-Traubenzucker-Ammoniak-Nährboden sprechen, so bedeutet dies, daß die Nährflüssigkeit 0,5 Proz. Natriumlaktat, 0,5 Proz. Traubenzucker und 0,5 Proz. Ammoniumchlorid enthält und alle die übrigen Phosphor-, Schwefel- und Magnesiumsalze, die in dem obigen Milchsäure-Ammoniak-Nährboden erwähnt sind.

Wir wollen nun darüber berichten, wie sich der Coli-Bazillus Nr. 14 im aeroben und anaeroben Verwendungsstoffwechsel in Kieselsäurenährböden verhielt. Im Milchsäure-Ammoniak-Nährboden wuchs er in hoher Schicht streng aerob und auch bei mehrtägiger Bebrütung trat niemals anaerobes Wachstum auf. Anderes Verhalten zeigte er im Traubenzucker-Milchsäure-Ammoniak-Nährboden. Nach 24stünd. Bebrütung war nur streng aerobes Wachstum feststellbar. Nach mehrtägiger (4—5) Bebrütung konnte man aber außer aerobem Wachstum vereinzelt in der Tiefe der Nährbodenschicht Kolonien feststellen und manchmal auch Gasbläschen. Die tiefen Kolonien erwiesen sich bei der kulturellen Prüfung als typische Coli-Bazillen.

Wir hielten diesen anaeroben Abkömmling getrennt von dem Ausgangsstamm und wollen ihn im folgenden Coli Nr. 14 „anaerob“ nennen. Es stellte sich nämlich heraus, daß er im Traubenzucker-Ammoniak-Nährboden üppig aerob und anaerob unter starker Gasbildung wuchs, während der Ausgangsstamm in diesem Nährboden immer in den ersten Tagen nur gutes aerobes Wachstum zeigte und erst nach mehrtägiger Bebrütung einzelne anaerobe Kolonien auftraten. Wir haben diese Versuche mehrfach mit gleichem Ergebnis wiederholt.

Daraus ergibt sich folgendes: In der Kultur des untersuchten Coli-Stammes ist die Mehrzahl der Individuen nicht befähigt, unter anaeroben Verhältnissen bei Traubenzucker als einziger Kohlenstoffquelle und Ammoniak als einziger Stickstoffquelle ihre Körpersubstanz aufzubauen, wiewohl dies unter aeroben Verhältnissen ohne Schwierigkeit der Fall ist. Einzelne Individuen sind aber zu dieser Leistung befähigt.

Zunächst sei darüber berichtet, wie sich der Ausgangsstamm des Coli Nr. 14 im aeroben und anaeroben Kohlenstoffverwendungsstoffwechsel verhielt, wenn Ammoniumchlorid die einzige Stickstoffquelle war.

Wir gingen von einer stickstoffhaltigen, aber kohlenstofffreien Stammlösung aus, die folgende Zusammensetzung hatte:

NH_4Cl	2,5 g
Na_2SO_4	2,5 g
MgSO_4	0,05 g
KH_2PO_4	0,25 g
K_2HPO_4	0,75 g
Aqua bidest. ad 100 ccm.	

Von den verschiedenen Kohlenstoffquellen wurde dann zu dieser Nährlösung 2,5 g zugesetzt. Je 1 ccm der beimpften Nährlösung wurde mit 4 ccm der frisch sterilisierten und neutralisierten Kieselsäure vermischt. Die Konzentration der Nährsubstanzen wurde dadurch auf $\frac{1}{5}$ reduziert. Mit jeder Kohlenstoffquelle wurde der Versuch doppelt angesetzt und mindestens eine Woche bebrütet. Wenn anaerobes Wachstum auftrat, wurden 5 Passagen durchgeführt und die letzte Passage mikroskopisch und kulturell auf Reinheit geprüft.

Im Essigsäure-Ammoniak-Nährboden zeigte der Ausgangsstamm folgendes Verhalten: Nach 24stünd. Bebrütung war noch kein Wachstum feststellbar. Nach 2tägiger Bebrütung wurde etwa 4 mm unter der Oberfläche eine graue Scheibe sichtbar, die, wie die mikroskopische Untersuchung ergab, aus winzig kleinen Kolonien bestand. An der unmittelbaren Oberfläche und unterhalb der Scheibe waren Kolonien nicht feststellbar. Nach 3 Tagen war

die Scheibe verbreitet und oberhalb derselben in der aëroben Zone traten Kolonien auf.

Im Milchsäure-Ammoniak-Nährboden war schon nach 24stünd. Bebrütung üppiges Wachstum feststellbar, aber nur an der unmittelbaren Oberfläche des Nährbodens. Dies änderte sich auch nach 7tägiger Bebrütung nicht. In der anaëroben Zone traten keine Kolonien auf.

Ganz genau so, wie im Milchsäure-Ammoniak-Nährboden verhielt sich der Ausgangsstamm Coli Nr. 14 in einem Medium, in dem bernsteinsaures Natrium oder äpfelsaures Natrium die einzigen Kohlenstoffquellen waren.

Von Alkoholen haben wir Glyzerin herangezogen, das nach unseren früheren Erfahrungen eine ausgezeichnete Kohlenstoffquelle für Coli-Bazillen darstellt. In einem Glyzerin-Ammoniak-Nährboden wuchs der Ausgangsstamm streng aërob. Nach 3tägiger Bebrütung traten in einzelnen Versuchen vereinzelte Kolonien in der Tiefe der hohen Schicht auf.

Im Mannit-Ammoniak-Nährboden zeigte der Ausgangsstamm nach 24stünd. Bebrütung Wachstum in einer etwa 1 cm hohen aëroben Zone, in der auch Gasblasen auftraten. In der anaëroben Zone waren mikroskopisch sehr kleine Kolonien feststellbar, aber keine Gasbildung. Nach 2tägiger Bebrütung war auch in der anaëroben Zone gutes Wachstum und Gasbildung aufgetreten.

Im Traubenzucker-Ammoniak-Nährboden wuchs dieser Coli-Stamm in einer etwa 3 mm hohen aëroben Zone mit Gasbildung. In der Tiefe des Nährbodens wurden Kolonien nach 24stünd. Bebrütung nicht festgestellt. Erst nach 48stünd. Aufenthalt im Brutschrank traten in der Tiefe Kolonien und Gasblasen auf.

Das gleiche Verhalten zeigte sich auch im Milchzucker-, Arabinose- und Maltose-Ammoniak-Nährboden.

Bei Traubenzucker, Milchzucker, Arabinose und Maltose haben wir Passagen in den gleichen Nährböden ausgeführt, indem wir von den in der Tiefe des Nährbodens befindlichen Kolonien weiter geimpft haben. In den Passagekulturen ist meistens gutes Wachstum sowohl in der aëroben als auch in der anaëroben Schicht aufgetreten; ebenso war Gasbildung regelmäßig feststellbar.

Zugleich mit den oben angeführten Nährlösungen prüften wir zur Kontrolle das Wachstum in der kohlenstofffreien Nährlösung.

Wenn Wachstum in dem kohlenstofffreien Nährboden aufgetreten ist, so konnte dies aus folgenden Gründen der Fall sein: 1) Bei der Beimpfung sind genügende Mengen von Kohlenstoffquellen mitübertragen worden, oder 2) die benutzten Nährsubstanzen oder die Kieselsäurelösung enthielt kohlenstoffhaltige Verunreinigungen, oder 3) die Brutschrankluft lieferte verwertbare Kohlenstoffquellen.

Der kohlenstofffreie Nährboden, mit dem Ausgangsstamm des Coli Nr. 14 beimpft, zeigte nach 2tägiger Bebrütung kein Wachstum. Am 3. Tage konnte man etwa $\frac{1}{2}$ cm unter der Oberfläche ein sehr zartes „Niveau“ wahrnehmen, das sich bei weiterer Bebrütung nicht verbreiterte. Abimpfung von diesem Niveau ergab Reinkultur unseres Coli-Stammes. Dasselbe Bild trat bei der ersten und bei der zweiten Passage in diesem Nährboden auf. Die 3. Passage blieb steril. Wenn es sich in diesem Versuch um kohlenstoffhaltige Verunreinigungen der benutzten Nährlösung oder der Kieselsäure gehandelt hätte, so hätte es möglich sein müssen, dauernd Passagen zu erzielen. Da dies nicht der Fall war, so muß angenommen werden, daß die Kohlenstoffquelle aus den kohlenstoffhaltigen Verunreinigungen der Brutschrankluft bezogen wurde. In früheren Untersuchungen haben wir zeigen können, daß die Coli-Stämme die kohlenstoffhaltigen Verunreinigungen der Brutschrankluft verwerten können.

Da diese des öfteren in zu geringer Menge vorhanden sind oder fehlen, bleibt dann natürlich das Wachstum aus. Bemerkenswert ist, daß das Wachstum nur in einer bestimmten Tiefe der Nährbodenschicht („Niveau“) erfolgte. Anaërobes Wachstum trat in den kohlenstofffreien Nährböden niemals ein. Das ist für unsere Fragestellung das wichtigste.

Der „anaërobe“ Abkömmling des Coli-Stammes Nr. 14 verhielt sich folgendermaßen: Wenn essigsäures, milchsäures, bernsteinsäures Salz oder Glyzerin die einzige Kohlenstoffquelle war, trat auch bei mehrtägiger Bebrütung niemals anaërobes, sondern nur üppiges aërobes Wachstum auf. Bei äpfelsäurem Natrium vermochte der „anaërobe“ Stamm auch in der Tiefe der Nährbodenschicht zu wachsen. Er zeigte zwar ein besonders üppiges aërobes Wachstum, es traten aber auch reichlich kleine Kolonien in der Tiefe auf. Gasbildung wurde nicht beobachtet. In einem Kieselsäurenährboden, in dem Mannit, Traubenzucker, Arabinose, Maltose oder Milchzucker die einzigen Kohlenstoffquellen waren, wuchs der „anaërobe“ Coli-Stamm sowohl aërob als auch anaërob gut und bildete Gas. Die Gasbildung war gelegentlich erst nach 48stünd. Bebrütung wahrnehmbar.

Der „anaërobe“ Coli-Stamm unterscheidet sich demnach von dem Ausgangsstamm Coli Nr. 14 dadurch, daß er mit Mannit, Traubenzucker, Arabinose, Maltose und Milchzucker sehr schnell und üppig bei Sauerstoffmangel wachsen kann.

Wir wollen nun zur Besprechung des anaëroben Stickstoffverwendungsstoffwechsels übergehen. Wir sind dabei von einer stickstofffreien Nährlösung folgender Zusammensetzung ausgegangen:

NaCl	2,5	g
Na ₂ SO ₄	2,5	g
MgSO ₄	0,05	g
KH ₂ PO ₄	0,25	g
K ₂ HPO ₄	0,75	g
Traubenzucker	2,5	g
Aqua bidestillata ad 100 ccm.		

Zu dieser Nährlösung wurden verschiedene Stickstoffquellen zugesetzt, und zwar pro 100 ccm 2,5 g. Wir prüften auf ihre Eignung zum anaëroben Wachstum folgende Stoffe: Natriumnitrat, Harnstoff und die Aminosäuren l-Glykokoll, l-Leuzin, d-Alanin, asparaginsäures Natrium, glutaminsäures Natrium und Tryptophan. Die Herstellung der Nährböden geschah auf die gleiche Weise, wie wir es beim Kohlenstoffverwendungsstoffwechsel beschrieben haben. Zur Kontrolle wurde die stickstofffreie Nährlösung ohne Zusatz einer Stickstoffquelle beimpft und außerdem wurde die Sterilität der verwendeten Nährböden kontrolliert.

Wir wollen einen Versuch mit dem Ausgangsstamm des Coli Nr. 14 besprechen. Die Kontrolle mit stickstofffreier Nährlösung blieb in der aëroben und anaëroben Zone steril. Die verwendete Nährflüssigkeit und die Kieselsäure enthielten demnach keine stickstoffhaltigen Verunreinigungen und auch die Brutschrankluft war zur Zeit dieser Versuche frei von solchen Verunreinigungen.

Der Coli-Stamm Nr. 14 vermochte mit Glykokoll, Leuzin, Alanin, asparaginsäurem Natrium, glutaminsäurem Natrium und mit Tryptophan als einzige Stickstoffquelle und mit Traubenzucker als 2. Kohlenstoffquelle aërob und anaërob zu gedeihen. Der Traubenzucker wurde dabei unter Gasbildung zersetzt. Des öfteren war das anaërobe Wachstum und die Gasbildung erst nach 2tägigem Verweilen im Brutschrank feststellbar. Auch im Harnstoff-Traubenzucker-Nährboden wuchs unser Coli-Stamm aërob und anaërob und bildete Gas. Im Nitrat-Traubenzucker-Nährboden

haben wir in wiederholten Versuchen feststellen können, daß der Coli-Stamm sowohl aërob als auch anaërob zu wachsen vermochte. Allerdings gelang uns die Züchtung in Passagen in diesem Nährboden nicht. Auch die Gasbildung haben wir im Nitrat-Traubenzucker-Nährboden vermißt.

Zum Vergleich haben wir einen frisch aus menschlichem Stuhl gezüchteten Coli-Stamm herangezogen. Er führte die Bezeichnung Coli Nr. 64. Dieser wuchs in Kieselsäure-Nährböden, in denen Ammoniumchlorid die einzige Stickstoffquelle und Natriumazetat, Natriumlaktat, Natriumsuccinat, Glyzerin, Mannit, Traubenzucker, Milchzucker, Arabinose und Maltose die einzige Kohlenstoffquelle waren, aërob sehr gut, aber zum Unterschied von Coli-Stamm Nr. 14 sind bei 7tägiger Bebrütung und in wiederholten Versuchen Kolonien in der Tiefe des Nährbodens bei keiner Kohlenstoffquelle aufgetreten. Es fehlte auch die Gasbildung in den kohlehydrathaltigen Nährböden.

Die Ergebnisse des Stickstoffverwendungsstoffwechsels beim Coli-Stamm Nr. 64 waren folgende: Im Glykokoll-Traubenzucker-Nährboden wuchs er in einer etwa 1 cm hohen aëroben Zone, in der auch Gasblasen aufgetreten sind. Erst nach 4tägiger Bebrütung traten vereinzelt Kolonien in der Tiefe und einzelne Gasblasen auf.

Im Alanin-Traubenzucker-Nährboden war gutes Wachstum in der aëroben Zone feststellbar, Kolonien in der Tiefe fehlten. Im Leuzin-Traubenzucker-Nährboden wuchs dieser Stamm in einer etwa $\frac{1}{2}$ cm hohen aëroben Zone reichlich und auch in der Tiefe waren viele Kolonien und Gasblasen festzustellen.

In Nährböden, in denen asparaginsaures Natrium oder glutaminsaures Natrium oder Tryptophan die Stickstoffquelle und Traubenzucker die Kohlenstoffquelle war, wuchs der Coli-Stamm Nr. 64 wie der Coli-Stamm Nr. 14 aërob und anaërob und vergäerte das Kohlehydrat. Im Harnstoff-Traubenzucker-Nährboden wuchs der Stamm Nr. 64 in der aëroben Zone, in der auch feine Gasbläschen auftraten. Anaërob wuchs er nicht. Im Nitrat-Traubenzucker-Nährboden war sehr gutes, streng aërobes Wachstum feststellbar, doch in der anaëroben Zone war weder Wachstum noch Gasbildung aufgetreten.

Zum Unterschied vom Coli Nr. 14 war also der Coli-Stamm Nr. 64 nicht imstande, anaërob zu wachsen, wenn Ammoniumchlorid die einzige Stickstoffquelle war.

Wir haben deshalb einen dritten Coli-Stamm aus menschlichem Stuhl gezüchtet und seinen anaëroben Verwendungsstoffwechsel untersucht. Er führte die Bezeichnung Coli Nr. 13. Dieser Stamm wuchs gleichfalls im Traubenzucker-Ammoniak-Nährboden streng aërob. Auch in einem Traubenzucker-Milchsäure-Ammoniaknährboden war nach mehrtägiger Bebrütung kein anaërobes Wachstum feststellbar.

Im Stickstoffverwendungsstoffwechsel verhielt sich der Coli-Stamm Nr. 13 folgendermaßen: Im Traubenzucker-Glykokoll-Nährboden wuchs er in der aëroben Zone gut, in der anaëroben Zone dagegen waren nur spärlich Kolonien und Gasblasen feststellbar. Im Traubenzucker-Alanin-Nährboden war in einer etwa 2 mm hohen Schicht der aëroben Zone gutes Wachstum und Gasbildung festzustellen. Dagegen blieb in der anaëroben Zone der Nährboden steril. In einem Nährboden, in dem Traubenzucker und Leuzin oder asparaginsaures Natrium oder glutaminsaures Natrium oder Tryptophan vorhanden waren, wuchs der Coli Nr. 13 aërob und anaërob unter Gasbildung. Im Traubenzucker-Harnstoff-Nährboden und im Traubenzucker-Nitrat-Nährboden war sehr gutes aërobes Wachstum

feststellbar, dagegen traten in der anaëroben Zone nur vereinzelte Kolonien auf. Coli-Stamm Nr. 13 verhielt sich also ähnlich wie der Coli-Stamm Nr. 64. Auch er war nicht befähigt, unter anaëroben Verhältnissen mit Ammoniumchlorid als Stickstoffquelle auszukommen.

Wir haben noch einen vierten Coli-Stamm aus menschlichem Stuhl untersucht. Zum Unterschied von dem Coli-Stamm Nr. 64 und Nr. 13 war dieser Stamm befähigt, in Passagen im Traubenzucker-Milchsäure-Ammoniak-Nährboden anaërob zu gedeihen. Dagegen wuchs er im Milchsäure-Ammoniak-Nährboden nur unter aëroben, nicht unter anaëroben Bedingungen.

Ueberblicken wir die Ergebnisse der Untersuchung des anaëroben Verwendungsstoffwechsels der Coli-Bazillen, so ergibt sich folgendes: Es gibt Stämme, die im Traubenzucker-Ammoniak-Nährboden nur aërob, und solche, die sowohl aërob als auch anaërob zu gedeihen vermögen. Es gibt auch Coli-Kulturen, in denen die Mehrzahl der Individuen im Traubenzucker-Ammoniak-Nährboden anaërob nicht wachsen, aber einzelne Individuen der Population dazu befähigt sind. Aus solchen Stämmen lassen sich die zum anaëroben Wachstum begabteren Individuen reinzüchten und diese gedeihen dann sowohl aërob als auch anaërob im Traubenzucker-Ammoniak-Nährboden gut. Alle untersuchten Coli-Stämme konnten ohne Schwierigkeiten anaërob gedeihen, sobald außer Traubenzucker asparaginsaures oder glutaminsaures Natrium oder Tryptophan anwesend war.

Wir wollen nun zur Besprechung des anaëroben Verwendungsstoffwechsels des Paratyphus B-Bazillus übergehen.

Zu diesen Versuchen wurde ein Stamm von Paratyphus B-Bazillen, Schottmüller-Typ, verwendet.

Wir wollen zunächst den Kohlenstoffverwendungsstoffwechsel dieses Paratyphus B-Bazillus besprechen.

Im Azetat-Ammoniak-Nährboden wuchs der Paratyphus B-Bazillus nach 48stünd. Bebrütung gut in der aëroben Zone, in der Tiefe des Nährbodens waren aber nur vereinzelte Kolonien feststellbar.

Im Laktat-Ammoniak-Nährboden gedieh der Paratyphus B-Bazillus unter aëroben Bedingungen sehr üppig, in der Tiefe der Nährbodenschicht traten nur vereinzelte Kolonien auf.

Mit bernsteinsaurem Natrium als einziger Kohlenstoffquelle und mit Ammoniumchlorid als einziger Stickstoffquelle wuchs der untersuchte Stamm nach 48stünd. Bebrütung nur in Form einer Scheibe, die etwa 3 mm unter der Oberfläche lag. Nach 3tägiger Bebrütung trat ein sehr gutes Wachstum in der aëroben Zone ein, aber nur vereinzelte Kolonien in der Tiefe der Nährbodenschicht.

Bei äpfelsaurem Natrium, bei Glycerin und bei Mannit als einziger Kohlenstoffquelle konnte ebenfalls nur in der aëroben, nicht dagegen in der anaëroben Zone Wachstum festgestellt werden.

Im Traubenzucker-Ammoniak-Nährboden war sehr gutes Wachstum in der aëroben Schicht feststellbar, in der Tiefe dagegen nur sehr spärliche Kolonien. Nach 6tägiger Bebrütung trat etwa 3 mm unter der Oberfläche ein sehr deutliches Niveau auf. Das gleiche Verhalten wies der Stamm in Arabinose-Ammoniak- und im Maltose-Ammoniak-Nährboden auf.

Im Milchzucker-Ammoniak-Nährboden trat nach 48stünd. Bebrütung etwa 3 mm unter der Oberfläche ein Niveau auf. Das Gleiche ist nach

mehrtägiger Bebrütung auch in dem Nährboden aufgetreten, dem keine Kohlenstoffquelle zugesetzt war.

Dieser Paratyphus B-Bazillus war also mit den untersuchten Kohlenstoffquellen (Natriumazetat, Natriumlaktat, Natriumsuccinat, Natriummalat, Glyzerin, Mannit, Traubenzucker, Arabinose, Maltose), wenn Ammoniumchlorid die einzige Stickstoffquelle war, zwar imstande, aërob, aber nicht anaërob zu wachsen. Es sind bei einzelnen Kohlenstoffquellen in der Tiefe des Nährbodens vereinzelte Kolonien gewachsen, doch gelang es durch Abimpfen von diesen Kolonien nicht, einen Abkömmling zu gewinnen, der unter den obigen Bedingungen anaërob zu wachsen vermochte.

Was den Stickstoffverwendungsstoffwechsel betrifft, so prüften wir als Stickstoffquellen bei Anwesenheit von Traubenzucker als Kohlenstoffquelle Natriumnitrat, Harnstoff und die Aminosäuren Glykokoll, Alanin, Leuzin, asparaginsäures Natrium, glutaminsäures Natrium und Tryptophan.

In der stickstofffreien traubenzuckerhaltigen Nährlösung wurde zwar im Ausgangsröhrchen nach 3tägiger Bebrütung in der anaëroben Zone Wachstum

Tabelle I.

Der aërobe und anaërobe Kohlenstoff-Verwendungsstoffwechsel zweier Stämme von Colibakterien und eines Paratyphus B Stammes,

Stickstoff- quelle	Kohlenstoff- quelle	Colibazillus Nr. 14		Colibazillus Nr. 14 „anaërob“		Colibazillus Nr. 64		Paratyphus B-Bazillus	
		aërob	anaërob	aërob	anaërob	aërob	anaërob	aërob	anaërob
Ammoniumsalz	Essigsäure	+	0	+	0	+	0	+	0?
„	Milchsäure	+	0	+	0	+	0	+	0?
„	Bernstein- säure	+	0	+	0	+	0	+	0?
„	Apfelsäure	+	0	+	+	+	0	+	0
„	Glycerin	+	0?	+	0	+	0	+	0
„	Mannit	+	s +	+	+	+	0	+	0
„	Trauben- zucker	+	s +	+	+	+	0	+	0? 2 andere Stämme +
„	Milchzucker	+	s +	+	+	+	0	+	0
„	Arabinose	+	s +	+	+	+	0	+	0?
„	Maltose	+	s +	+	+	+	0	+	0?

Zeichenerklärung:

+ = Wachstum;

s } = In der ersten Kultur nur vereinzelt

+ } Tiefenkolonien beobachtet, in Passagen
aber gutes anaërobes Wachstum;

0? = Ganz vereinzelt in der ersten Kul-
tur Tiefenkolonien beobachtet;

0 = kein Wachstum.

festgestellt, Passagen ließen sich aber nicht erzielen. Das Wachstum unter anaëroben Verhältnissen war hier durch die bei der Beimpfung mitübertragene Stickstoffquelle ermöglicht.

Mit Natriumnitrat trat sehr gutes, in Passagen fortzüchtbares aërobes Wachstum ein. Des öfteren war es besonders intensiv in einem etwa 1 mm unter der Oberfläche befindlichen Niveau. Doch war anaërobes Wachstum nicht feststellbar.

Mit Harnstoff als Stickstoffquelle und Traubenzucker als Kohlenstoffquelle wuchs der untersuchte Paratyphus B-Bazillus sehr üppig aërob, doch in der anaëroben Zone traten nur gelegentlich sehr spärliche Kolonien auf. Gleiche Beobachtung machten wir auch in Nährböden, in denen Glykokoll, Alanin oder Leucin die Stickstoffquelle war. Anders war das Ergebnis, wenn asparaginsaures Natrium, glutaminsaures Natrium oder Tryptophan die Stickstoffquelle war. Mit diesen Stickstoffquellen vermochte der untersuchte Paratyphus B-Bazillus sowohl in der aëroben als auch in der anaëroben Zone zu wachsen und Traubenzucker unter Gasbildung zu vergären. Ohne Schwierigkeiten ließen sich Passagen durchführen.

Bei der Untersuchung des anaëroben Verwendungsstoffwechsels des Coli-Bazillus haben wir festgestellt, daß manche Stämme Ammoniumsalze bei Sauerstoffabschluß verwerten können, andere dazu nicht befähigt sind. Es lag nahe, zu untersuchen, ob dies nicht auch bei Paratyphus B-Bazillus der Fall ist. Der von uns untersuchte Paratyphusbazillus war, wie wir oben besprochen haben, nicht fähig, Ammoniumsalze unter anaëroben Verhältnissen zu assim-

Tabelle II.

Der aërobe und anaërobe Stickstoffverwendungsstoffwechsel von drei Stämmen von Colibakterien und eines Paratyphus B Stammes.

Stickstoff- quelle	Kohlen- stoff- quelle	Colibazillus Nr. 14		Colibazillus Nr. 13		Colibazillus Nr. 64		Paratyphus B-Bazillus	
		aërob	anaërob	aërob	anaërob	aërob	anaërob	aërob	anaërob
Harnstoff	Trauben- zucker	+	+	+	s +	+	0	+	0?
l-Glykokoll	„	+	+	+	s +	+	s +	+	0?
l-Leucin	„	+	+	+	+	+	s +	+	0?
d-Alanin	„	+	+	+	0	+	0	+	0?
Asparagin- saures Na- trium	„	+	+	+	+	+	+	+	+
Glutamin- saures Na- trium	„	+	+	+	+	+	+	+	+
Tryptophan	„	+	+	+	+	+	+	+	+
Ammonium- salz	„	+	s +	+	0	+	0	+	0? 2 andere Stämme +

Zeichenerklärung: siehe Tabelle I.

lieren. Auch mit Nitrat, Harnstoff und den Aminosäuren Glykokoll, Alanin und Leuzin war er dazu nicht fähig. Es gelang ihm erst ohne Schwierigkeit anaërob zu wachsen, wenn asparaginsäures oder glutaminsäures Natrium oder Tryptophan die Stickstoffquelle und Traubenzucker die Kohlenstoffquelle war.

Wir haben gemeinsam mit Frl. Dr. G. v. Holzhausen und Herrn Dr. F. Mündel zwei weitere Paratyphus B-Stämme untersucht und stellten fest, daß diese im Traubenzucker-Ammoniak-Nährboden unter aëroben und anaëroben Bedingungen gedeihen. Für die Frage der Wachstumsfähigkeit dieser Keime im Darm ist diese Feststellung von Interesse. Wir werden über den anaëroben Verwendungsstoffwechsel dieser Paratyphus B-Stämme in der nächsten Mitteilung berichten.

Die vorstehenden beiden Tabellen (S. 359 und 360) bringen eine Uebersicht über den aëroben und anaëroben Verwendungsstoffwechsel der untersuchten Stämme von Coli- und Paratyphus B-Bazillen.

Literaturverzeichnis.

- 1) Aubel, E. et Salabartan, J., Signification des produits de dédoublement, formés par le bacille Coli, aux dépens du glucose. (Compt. rend. Acad. d. Scienc. T. 180. 1925. p. 1784. — 2) Berthelot, A., Recherches biochimiques sur l'acide pyruvique. (Bull. soc. chim. biol. T. 6. p. 326). — 3) Braun, H. u. Cahn-Bronner, C. E., Der Verwendungsstoffwechsel pathogener Bakterien. (Biochem. Ztschr. Bd. 131. 1922. H. 3/4.) — 4) Dies., Ueber die synthetischen Fähigkeiten pathogener Bakterien und ihr biologisches Verhalten unter einfachen Ernährungsbedingungen. III. Mitteilung: Die Bedeutung des Stoffwechsels für die Entbehrlichkeit oder Unentbehrlichkeit des Sauerstoffes. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 86. 1921. H. 5). — 5) Neuberg, C. u. Gorr, G., Ueber den Mechanismus der Milchsäurebildung bei Bakterien. (Biochem. Ztschr. Bd. 162. 1925. S. 490). — 6) Dies., Ebenda. Bd. 166. 1925. S. 482. H. 4/6). — 7) Dies., Ueber die saccharogene Bildung von Milchsäure durch verschiedene Bakterien, die Methylglyoxal dismutieren, und über eine einfache Art der Isolierung von Lactat. (Biochem. Ztschr. Bd. 173. 1926. S. 476). — 8) Neuberg, C. u. Simon, E., Ueber die quantitative Dismutation des Methylglyoxals zu Milchsäure durch den Bacillus Delbrücki sowie durch das Bacterium lactis aërogenes nebst Versuchen über das abweichende stereochemische Verhalten des Phenylglyoxals bei dieser Reaktion. (Biochem. Ztschr. Bd. 186. 1927. S. 331). — 9) Quastel, J. H., Stephenson, M. a. Wetham, M. D., Some Reactions of Resting Bacteria in Relation to anaerobic Groth. (Biochem. Journ. Vol. 19. 1925. p. 304). — 10) Quastel, J. H. a. Stephenson, M., Further Observations on the anaerobic Growth of Bacteria. (Biochem. Journ. Vol. 19). — 11) Rona, P. u. Nicolai, H. W., Ueber den Fermentstoffwechsel der Bakterien. I. Mitteilung: Atmung und Glykolyse bei B. coli. (Biochem. Ztschr. Bd. 172. 1926. S. 82). — 12) Dies., Ueber den Fermentstoffwechsel der Bakterien. II. Mitteilung: Aërobe Glykolyse und die Spaltung einiger anderer Zuckerarten durch B. coli. Eine neue Mikrosaccharasebestimmung. (Biochem. Ztschr. Bd. 172. 1926. S. 212).

Nachdruck verboten.

Bakteriologische Beobachtungen während der Typhusepidemie in Hannover im Herbst 1926.

[Aus dem Pathologisch-bakteriologischen Institut des Städt. Krankenhauses I, Hannover (Leiter: Prof. Dr. Stroebe).]

Von Dr. med. **W. Mann**,
chem. Assistenzarzt am Institut.

Die Hauptdaten der im Institut während der Typhusepidemie 1926 gemachten Untersuchungen sind mit den wesentlichen Ergebnissen von Herrn Professor Stroebe in seinem Beitrag für den bisher nicht veröffentlichten

Schlußbericht der Gutachterkommission über die Epidemie zusammengestellt. In Folgendem sollen einzelne weitere Beobachtungen berichtet werden, die wir damals erheben konnten, und die allgemeineres Interesse haben dürften. Leider war es uns bei den plötzlich hereinbrechenden Massenuntersuchungen nicht möglich, auch wichtigere Einzelheiten durch besondere Züchtungsverfahren, Versuche usw., so weit zu verfolgen, wie es wünschenswert gewesen wäre; sondern wir mußten uns mit der einfachen Laboratoriumstechnik begnügen, soweit sie zur Stellung der Diagnose unbedingt notwendig ist. Doch erscheint die Mitteilung der erhobenen Befunde nicht unberechtigt, da die Gelegenheit, ein so reiches und relativ einheitliches Material zu untersuchen, so leicht nicht wieder kommen dürfte und sich auch mit der einfachen Technik mancher interessante Befund erheben ließ. Vor allem erschien es wertvoll, nachzuprüfen, wie weit sich an kleinem Material und an besonderen Fällen erhobene Befunde bei Massenuntersuchungen während einer Epidemie bestätigen lassen.

Das Untersuchungs-Material stammt ausschließlich von Patienten, die im Krankenhaus I und dem angeschlossenen Hilfskrankenhaus Haltenhoffstraße lagen. Es handelt sich dabei um 1280 Patienten; von diesen waren 742 männlichen, 507 weiblichen Geschlechts, bei 31 Patienten ließ sich nachträglich aus unseren Listen das Geschlecht nicht mehr feststellen. Bei 492 Patienten (= 38,44 Proz.) wurde ein positiver bakteriologischer Befund erhoben, außer der Widalschen Reaktion; davon waren 437 (= 88,80 Proz.) Typhus und 42 (= 8,53 Proz.) Paratyphusbefunde. Bei 13 Patienten wurden sowohl Typhus- wie Paratyphus B-Bazillen gefunden. Es sind hierbei ebenso wie bei den späteren Ausführungen die Paratyphus B-Befunde mit zur Epidemie gerechnet, da sie bei Patienten erhalten wurden, die während der Epidemie als typhuskrank eingeliefert wurden. Es mag an dieser Stelle unerörtert bleiben, ob diese Fälle tatsächlich zur Epidemie gehörten; doch möchte ich betonen, daß die Zahl der Paratyphusfälle für normale Zeite ungewöhnlich hoch war.

Setzt man die Zahl der Kranken, bei denen von uns bakteriologische Typhusuntersuchungen gemacht wurden, entweder, weil sich im Verlauf anderer Krankheiten der Verdacht auf Typhus eingestellt hatte, oder, weil die Betroffenen nur als typhusverdächtig eingeliefert waren, auf etwa 200 Personen an — Jürgens rechnet 500 Fälle, doch für das gesamte von ihm nachgeprüfte Material — so bleiben etwa 1100 Typhusranke. Das ist aber beinahe die Hälfte der als sicher typhuskrank anzusehenden Personen, deren Zahl sich nach den Angaben Hahns in der Berliner Med. Gesellschaft auf etwa 2400 beläuft. Ueber die Verteilung des Untersuchungsmaterials geben die folgenden Tabellen Auskunft, die der Zusammenstellung von Herrn Professor Stroebe entnommen sind.

Tabelle I.
(Die Zahlen beziehen sich auf Patienten).

Material	untersucht	positiv	Ty +	Para B +
Blut	754	294 (39,10%)	277 (94,21%)	17 (5,78%)
Stuhl	1008	116 (11,50%)	81 (69,82%)	35 (30,17%)
Urin	871	70 (8,04%)	63 (90,00%)	7 (10,00%)
Duodenalsaft ¹⁾	525	41 (7,8%)	36 (87,80%)	5 (12,20%)

Leider ist es aus unseren Aufzeichnungen nicht ersichtlich, in welcher Krankheitszeit die einzelnen Untersuchungen gemacht sind; doch kann man im allgemeinen sagen, daß die Blutuntersuchungen zum größten Teil im fieber-

1) Duodenalininhalt nach Pituitrininjektion von wechselnd starker galliger Färbung.

Tabelle II.
(Die Zahlen beziehen sich auf Einzeluntersuchungen).

Material	Gesamtzahl	positiv	negativ	Typhus +	Para +
Widal ¹⁾	868	% der Gesamtzahl		% der pos. Untersuchungen	
		592 (68,20%)	276 (31,80%)	409 (außerdem 135 für beide)	48
Blut	971	314 (32,33%)	657 (67,67%)	292 (93,00%)	22 (17,00%)
Stuhl	3159	245 (7,75%)	2914 (92,25%)	177 (73,23%)	68 (27,77%)
Urin	2358	97 (4,12%)	2231 (95,88%)	82 (84,55%)	15 (15,45%)
Sonstiges ²⁾	34	12 (35,19%)	22 (64,71%)	11 (91,66%)	1 (8,34%)
Duodenalsaft	602	55 (9,13%)	574 (90,87%)	48 (87,27%)	7 (12,73%)
Sek- Milz	141	89 (63,12%)	52 (36,88%)	87 (97,74%)	2 (2,25%)
tion Blasengalle	113	46 (40,70%)	67 (59,30%)	44 (95,25%)	2 (4,75%)
Summe (außer Widal)	7348	858 (11,32%)	6490 (88,68%)	741 (86,36%)	117 (13,64%)

haften Stadium der Krankheit, und zwar meist in der zweiten Woche, gemacht sind. Diese Verzögerung lag zum Teil an rein technischen Gründen: auf den Abteilungen konnten die Blutentnahmen bei der großen Zahl der fast gleichzeitig aufgenommenen Patienten nicht immer sofort gemacht werden; anderenteils konnten wir selbst in den ersten Tagen der Epidemie nur eine beschränkte Anzahl Untersuchungen erledigen, da es zunächst an den für derartige Massenuntersuchungen notwendigen Einrichtungen und Hilfskräften gebrach. Ferner kam ein großer Teil der Patienten besonders bei dem Ansturm im Beginn der Epidemie erst in der zweiten oder späteren Erkrankungswoche zur Aufnahme. Die Untersuchungen der Widal'schen Reaktion entfallen größtenteils auf dieselbe Krankheitszeit; doch ist eine größere Zahl im fieberfreien Stadium gemacht, entweder um bei vorher bakteriologisch negativ gebliebenen Fällen eine nachträgliche Bestätigung der Diagnose zu erhalten, oder um vorherige Ergebnisse der Widal'schen Reaktion nachzuprüfen. Die Stuhl- und Urinuntersuchungen beginnen etwa in der dritten bis fünften, stammen jedoch viel aus den späteren Krankheitswochen. In dieselbe Zeit fallen die Untersuchungen der Duodenalsäfte. Genauere Zeitangaben können wir nur für die Blutuntersuchungen bei den im Krankenhaus I gelegenen Patienten und für die bei Sektionen angestellten bakteriologischen Milz- und Gallenuntersuchungen machen. Ich darf für letztere auf die entsprechende Tabelle in der Zusammenstellung von Herrn Professor Stroebe verweisen. Diese Tabelle hier zu wiederholen, erübrigt sich, da sie zum Vergleich mit den Untersuchungen anderer, die sich auf von lebenden Menschen gewonnenes Material beziehen, nicht eignet. Muß somit bis auf einen Teil der Blutuntersuchungen auf einen Vergleich unserer Untersuchungsergebnisse für die einzelnen Krankheitswochen mit denen anderer Untersucher verzichtet werden, so lohnt sich doch ein Vergleich der Gesamtergebnisse. Hier scheinen unsere Resultate auf den ersten Blick wenig günstig, wenn man sie mit Zahlen vergleicht, wie sie in größeren Zusammenstellungen von Gaethgens, Kutscher, Bitter und Kalthoff u. a. mitgeteilt werden. Doch hinkt ein Vergleich mit diesen Zahlen insofern, als es sich hierbei um Untersuchungen von kleinen Epidemien und Einzelfällen handelt, die dann zu größeren Zahlen zusammengezogen sind. Derartige, unter verhältnismäßig

1) Als positiv ist ein Widal 1:100 angenommen.

2) Hierhin gehören: Gallenblasenpunktate, Empyem-, Abszeß-, Parotis-, Osteomyelitiseiter, Douglaspunktate, Sputa und vereinzelt Sektionsuntersuchungen außer Milz und Galle.

günstigen Bedingungen gewonnene Zahlen geben aber ein anderes Bild. Man kann die Untersuchungen öfter wiederholen lassen, eine größere Anzahl von Untersuchungsverfahren nebeneinander benutzen usw. Das ist bei einer großen Epidemie, wo man sich aus zeitlichen Gründen Beschränkung auferlegen muß, nicht in dem Maße möglich. Zum Vergleich mit unseren Ergebnissen kommen daher nur die während einer anderen größeren Epidemie gewonnenen in Frage. Resultate derartiger Untersuchungen aus neuerer Zeit sind von Schmitz für die Jenenser Epidemie im Jahre 1915 veröffentlicht. Es ist dies um so mehr möglich, als die Untersuchungen bei beiden Epidemien praktisch etwa denselben Zeitraum in bezug auf die Krankheit umfassen. Zur Uebersicht lassen ich 2 Tabellen folgen.

Tabelle III.

(Die Zahlen bedeuten das Verhältnis der positiven Einzeluntersuchungen zu den Gesamtuntersuchungen).

Ort	Widal +	Blut +	Stuhl +	Urin +
Jena	71,82%	26,31%	5,29%	3,84%
Hannover	68,20%	32,32%	7,75%	4,12%

Tabelle IV.

(Die Zahlen bedeuten das Verhältnis der bakteriologisch positiven Kranken zur Gesamtzahl der untersuchten Kranken).

Ort	Widal +	Blut +	Stuhl +	Urin +
Jena	76,91%	30,61%	11,33%	—
Hannover	71,58%	39,10%	11,50%	8,04%

Die Zahlen der Jenenser Ergebnisse beziehen sich auf Untersuchungen von sicher Typhuskranken; unsere Zahlen enthalten auch die Untersuchungen bei den auf etwa 200 geschätzten Nicht-Typhuskranken, so daß unsere Ergebnisse bei wirklich Typhuskranken noch etwas besser sind, als aus den Tabellen hervorgeht. Ein Vergleich der beiden Tabellen ergibt im wesentlichen eine gute Uebereinstimmung, besonders bei den Stuhl- und Urinuntersuchungen. Die Widal-Untersuchungen waren während der Jenenser Epidemie etwas mehr positiv, bei uns sind es die Bazillenbefunde aus Patientenblut. Das tritt noch mehr hervor bei der hier für einen Teil der Blutuntersuchungen möglichen Gegenüberstellung nach Krankheitswochen. Zum weiteren Vergleich füge ich dieser Tabelle noch die Prozentzahlen der an größerem Material gewonnenen

Tabelle V.

(Die Zahlen beziehen sich auf untersuchte Patienten).

Zeit	Jena			Hannover ¹⁾			Kayser	Kalthoff
	Gesamtzahl	Positiv	%	Gesamtzahl	Positiv	%		
1. Woche	46	17	36,95	76	55	72,36	94%	63%
2. Woche	32	9	28,12	154	92	59,74	56,5%	59%
3. Woche	19	2	10,52	48	24	50	43%	45,3%
4. Woche	7 ²⁾	1	14,28	6 ²⁾	—	—	31,5%	17,2%

1) Die genauen Angaben verdanke ich der Liebenswürdigkeit des Herrn Sekundärarzt Dr. F. Stroebe.

2) Die beiden Zahlen sind zu klein, als daß das Ergebnis mehr als einen Zufall bedeutet.

positiven Blutuntersuchungen Kayzers und Kalthoffs bei, von denen die ersteren als die durchschnittlichen Werte anerkannt sind. Berücksichtigt sind nur die ersten 4 Wochen, als dem fieberhaften Stadium entsprechend.

Unsere Ergebnisse bei den Blutuntersuchungen sind demnach, auch im Vergleich mit den aus ruhigen Zeiten genommenen Zahlen, als gut zu bezeichnen. Für die anderen Untersuchungen möchten wir daher ebenfalls annehmen, daß sie mindestens als relativ gut zu bezeichnen sind. Daß ihre Gesamtzahl hinter denen anderer aus ruhigen Zeiten zurückbleibt, dürfte in den oben auseinandergesetzten Umständen bei einer Epidemie liegen. Unsere Ergebnisse bestätigen also durchaus die von Abel und Schmitz geäußerte Ansicht, daß die einzelnen zurzeit gebräuchlichen Züchtungsverfahren für die Typhus-Diagnostik den Anforderungen, die man an sie stellen muß, nur ungenügend nachkommen. Damit soll nicht bestritten werden, daß man bei der bakteriologischen Typhusdiagnose nicht mehr herausholen kann, wie es Bitter behauptet; auch Abel bestreitet das nicht. Es ist das aber nicht ein Erfolg des einzelnen Verfahrens, sondern anderer Dinge — Wiederholung von Untersuchungen, Anwendung mehrerer Parallelverfahren usw. —, die mit dem Verfahren selbst nichts zu tun haben. Es geht dies auch aus der Arbeit von Kalthoff hervor.

Am meisten positive Resultate hatten wir mit der Widalschen Reaktion mit Patientenblut. Es entspricht das bekannten Tatsachen. Gewiß kann die Blutkultur, noch dazu, wenn sie bei demselben Fall oft wiederholt werden kann, diese Zahlen erreichen; auch ist ihr diagnostischer Wert weit größer, als der auch unspezifisch oft recht hohe positive Ausfall der Widalschen Reaktion; aber keine von allen Untersuchungsmethoden hat so wenig Versager wie letztere. Außerdem kommen besonders in der ersten Zeit einer Epidemie die Fälle oft erst später zur Untersuchung, wenn die günstigste Zeit für die Blutkultur vorbei ist; ferner erscheint im Gegensatz zum Einzelfall der diagnostische Wert einer positiven Widalschen Reaktion bei einer Epidemie größer, da durch den Bazillenbefund bei anderen, ungefähr gleichzeitig und unter ähnlichen klinischen Erscheinungen erkrankten Patienten bereits ein Hinweis auf die Diagnose gegeben ist. Wir möchten daher der Widalschen Reaktion im Patientenblut bei einer Epidemie auch zur Diagnose des Einzelfalles eine große Bedeutung zumessen. Allerdings muß man einen positiven Ausfall der Widalschen Reaktion mindestens in einer Verdünnung 1:200 bis 1:400 verlangen, also entsprechend hohe Verdünnungen ansetzen (mindestens bis 1:800).

Zur Anstellung der Widalschen Reaktion mit Patientenblut sind Stämme genommen, die aus dem während der Epidemie übersandten Untersuchungsmaterial gezüchtet wurden. Zu jedem Versuch wurde eine Mischung von drei nicht über 18 Std. alten Typhus- bzw. Paratyphus B-Stämmen genommen. Auf diese Weise glaubten wir einesteils den für die Sera geeignetesten Stamm zu haben, d. h. den, der am leichtesten und auch am höchsten beeinflusst werden mußte, andererseits durch die Wahl von mehreren Kulturen von agglutinationshemmenden Stämmen relativ unabhängig zu sein. Die Seren mit jedem Stamm einzeln, anstatt mit der Mischung anzusetzen, mußte aus Zeit- und Personalmangel unterbleiben. Auch beim Typhus haben wir mehrere Stämme genommen, trotzdem wir, wie später erörtert werden soll, glauben, nur mit einem leicht agglutinierbarem Hauptstamm zu tun gehabt zu haben; doch wissen wir andererseits, daß das Agglutinationsvermögen der Stämme erheblich von den äußeren Bedingungen beeinflusst wird (P. Th. Müller, Kirstein, Eisler und Silberstein, Hahn, Wohlfeil u. a.). Die Ablesung erfolgte, nachdem der Versuch 2 Std. im Brutschrank und weitere 22 Std. bei Zimmertemperatur gestanden hatte (Brion und Kayser, Gräf, Kleinsorgen). Als positiv wurde eine makroskopisch oder mit Lupenvergrößerung (8mal) deutlich erkenn-

bare Ausflockung angegeben. Daß ein Serum nach weiterem 22stünd. Stehen bei Zimmertemperatur eine höhere Agglutination ergab als bei der Ablesung nach 2 Std. Brutschrankaufenthalt haben wir mehrmals gesehen (s. bei Korte und Sternberg, Scheller u. a.), doch haben wir nicht den großen Unterschied zwischen beiden Ablesungen beobachtet wie Kleinsorgen. Da es sich bei unseren Versuchen um Reihenuntersuchungen von 30—40 Seren handelte, die alle mit derselben gut durchmischten Bazillenaufschwemmung beschickt wurden, hat in diesen Fällen ein langsames Agglutinationsvermögen des Serums vorgelegen, wie es von P. Th. Müller besonders für den Anfang der Typhuserkrankung beschrieben ist. Eine „Hemmungszone“, wie Scheller es nannte, wenn ein Serum in höheren Verdünnungen deutlicher agglutinierte als in niederen, haben wir ebenfalls nur in wenigen Fällen beobachtet. Die Ausflockung selbst war beim Typhus grobflockig, beim Paratyphus erheblich feiner, und zwar auch in manchen Fällen, wo es sich nicht um eine Mitagglutination beim Typhus, sondern einen bakteriologisch nachgewiesenen Paratyphus handelte. Wir können somit, ähnlich wie Seiffert und Kauffmann, die Auffassung von Weil und Felix, daß für die Typhusgruppe die grobflockige Agglutination spezifisch sei, nicht durchweg bestätigen. Eine Trennung von Haupt- und Mitagglutination nur nach dem Aussehen der Agglutination zu machen, halten wir daher, wie auch Kauffmann, für verfehlt.

Bei den häufigen — 22,5 Proz. — Mitagglutinationen zwischen Typhus und Paratyphus B bei Patientenserum haben wir alle möglichen Varianten gesehen: Typhuskrankenserum agglutinierte Paratyphus B-Bakterien mit und umgekehrt; die Mitagglutination trat im Anfang der Krankheit auf und verschwand später, bzw. umgekehrt. Im allgemeinen war die Mitagglutination niedriger als die Hauptagglutination, doch haben wir auch gleichhohe oder höhere gesehen, so daß wir die bereits von Jürgens und v. Drigalski im Gegensatz zu Korte und Sternberg u. a. gemachten Angaben bestätigen können. Allerdings möchten wir betonen, daß bei Nachuntersuchungen in den späteren Krankheitswochen die Mitagglutination immer niedriger war, wenn sie nicht überhaupt verschwunden war; eine Beobachtung, die bereits von Grimm gemacht wurde. Wir haben diese Beobachtung mehrmals benutzt, um Haupt- und Mitagglutination zu unterscheiden, da die übrigen Verfahren zur Trennung derselben uns im Stich ließen. Der am meisten angewandte Castellianische Versuch ist für den Massenbetrieb zu umständlich; Differenzierung durch Ansetzen stärkerer Verdünnung, wie es Gaegtgens empfiehlt, ist zwar einfach und im allgemeinen gut, nur muß man sehr hohe Verdünnungen nehmen; außerdem ist sie im Anfang nicht beweisend, da gerade dann die Mitagglutination höher sein kann. Ueber das von Lentz vorgeschlagene Verfahren, den Versuch erst eine $\frac{1}{2}$ Std. bei Zimmertemperatur stehen zu lassen und dann erstmalig abzulesen, haben wir keine Erfahrung gesammelt. Das seltene Vorkommnis, daß bei einem Typhus das Patientenserum nur Paratyphus B-Bazillen agglutiniert und umgekehrt, wie es von Thies beobachtet ist, haben wir dreimal bzw. einmal gesehen. Die Agglutination des Paratyphusstammes erfolgte hierbei einmal in einer Verdünnung 1 : 800, 2mal bei einer von 1 : 100. Der bakteriologische Typhusnachweis von zweien dieser Fälle wurde im Blut erhoben, einmal im Duodenalsaft, es war dies der Fall, der die Paratyphusagglutination 1 : 800 hatte. In einem vierten Fall, bei dem in der Blutkultur Paratyphus B-Bazillen gewachsen waren, war der Widal nur für Typhus 1 : 800 positiv.

Die von uns gebrauchte bakteriologisch-diagnostische Technik ist größtenteils schon in der Arbeit über die Vergleichsuntersuchungen mit dem Nissle-Verfahren mitgeteilt. Die beiden benutzten Nährböden: Endos-Fuchsin-Sulfit-Milchzuckeragar und Loefflers Malachitgrün-Safranin-Reinblau-Galleagar haben sich uns gut bewährt. Sie entsprechen der im allgemeinen beobachteten Vorschrift, einen hemmenden und einen nichthemmenden Nährboden zu benutzen. Welchem von beiden wir den Vorzug geben möchten, ist schwer zu sagen. Der Endoagar zeichnet sich, wenigstens bei Durchsicht nach 24 Std., durch gute Differenzierung und geringe Farbdiffusion aus. Der Umschlag ist deutlich und für das Auge kontrastreich; er gestattet infolgedessen ein rasches Erkennen verdächtiger Kolonien, ohne das Auge zu sehr zu ermüden — wohl der größte Vorteil der Endoplatte, besonders für die Massenarbeit einer Epidemie —; ein Nachteil ist die schwierige Unterscheidung von den zahlreichen, im Stuhl vorhandenen anderen Bakterien, die ebenfalls, wie die Typhus-Paratyphusgruppe, Milchzucker nicht zersetzen, so daß mit der negativen Probeagglutination viel Zeit verloren geht. Im ganzen können wir also die in den Zusammenstellungen von Kutscher und Gaetgens gefällten Urteile bestätigen. — Der größte Vorzug des Reinblauagar ist seine sehr stark hemmende Wirkung; im Vergleich mit dem Endonährboden tritt diese auch dann noch merklich hervor, wenn man beide hintereinander mit demselben Spatel beimpft, und zwar den Reinblauagar zuerst. Die Diffusion ist gering. Im Gegensatz zu der Mitteilung Loefflers haben wir bei Stuhl- und Urinuntersuchungen niemals gesehen, daß die Farbdifferenzierung nach 24 Std. schon deutlich ist. Die hiermit beimpften Platten müssen 48 Std. stehen, dann geben sie einen guten Ausschlag. Bei Ausstrichen aus den mit Blut versetzten Galleröhrchen und aus Duodenalsaft, die vor dem ersten Ausstrich bereits 24 Std. bebrütet waren, zeigte sich ein deutlicher Umschlag bereits nach 24 Std. Ein Nachteil des Loefflerschen Nährbodens ist der, daß er zum Durchsehen einige Uebung verlangt und bei großen Plattenreihen die Augen sehr anstrengt, so daß bei großen Untersuchungszeiten manche Fehldiagnose vorkommen kann. Nach Schröder sollen die auf Reinblauagar gewachsenen Kolonien häufig verminderte Agglutinationsfähigkeit zeigen. Wir können diese Angaben, ebenso wie Studte, nicht bestätigen. In bezug auf die Ergebnisse — bei Stuhl-, Urin- und Duodenalsaftuntersuchungen sind immer beide Platten beimpft, so daß hierbei ein Vergleich möglich ist — scheint uns der Endoagar der bessere zu sein. Den zeitweise benutzten Drigalski-Conradi-Agar haben wir bald wieder fortgelassen, da er uns wegen des wenig deutlichen Farbumschlags nicht recht befriedigte.

Zum Typhusbazillen-Nachweis aus Blut ist das mit einfacher Rinder-galle versetzte Blut vor dem Plattenausstrich erst 24 Std. im Brutschrank angereichert. Die Gallenmenge betrug 5 ccm, die mit 2—5 ccm Blut am Krankenbett beschickt wurde. War der erste Ausstrich negativ, so ist nach 48 bzw. 72stünd. Anreicherung im Brutschrank noch einmal ausgestrichen; neuerdings reichern wir auf Grund einer Beobachtung bis 96 Std. an. Die meisten positiven Befunde wurden nach 24 und 48stünd. Anreicherung erhoben, während nach 72stünd. Anreicherung nur noch eine sehr geringe Anzahl positiv wird. Wir können somit die Beobachtung Bitters, Hages u. a. bestätigen, daß der Ausstrich öfter erst nach längerer Anreicherung positiv wird.

In einigen wenigen Fällen konnten wir Vergleiche zwischen der Blutgalle-Anreicherung und der Blutkultur in 10proz. Pepton-Bouillon nach Schottmüller anstellen. Es waren hierbei immer ein Galleröhrchen und vier Peptonröhrchen genommen, die mit je 2 ccm Blut beimpft wurden; die Beschickung erfolgte gleichzeitig, direkt am Krankenbett. Auch die Schottmüller-

Röhrchen haben wir erst im Brutschranke angereichert, und zwar nötigenfalls bis zu 72 Std. Im allgemeinen sind die Resultate beider Verfahren einander gleich; auch Beobachtungen aus der Nichtepidemiezeit haben dies bestätigt. Nur einmal blieb die Schottmüller-Kultur gegenüber der Gallekultur negativ. Es handelte sich um einen Paratyphus B, der jedoch auch in der Blutgalle erst nach 72stünd. Anreicherung wuchs.

Bei dem Typhus-Bazillennachweis aus Stuhl und Urin haben sich keine besonderen Beobachtungen ergeben. Ueber das bei den Stuhluntersuchungen neben dem gewöhnlichen Neisser-Verfahren angewandte Nissle-Verfahren ist in einer früheren Arbeit berichtet (Münch. med. Wochenschr. 1927). Bei den Urinuntersuchungen fanden sich Typhusbazillen je einmal bei einer Coli- und Proteuseystitis.

Das Aussehen der Typhuskolonien auf den Endoplatten wich in keiner Weise von dem bekannten ab; anders auf den Reinblauplatten. Auf den aus Blutgalleröhrchen beimpften Platten wuchsen die Typhuskolonien im allgemeinen so, wie es von Loeffler angegeben ist: als kleine, flache, durchscheinende, pyramidal zulaufende, glasige oder auch leicht bläuliche Kolonien (Form I). Den von Loeffler beschriebenen Metallglanz haben wir ebenso wie Studte niemals gesehen. Außer dieser Form beobachteten wir seltener etwas größere und flachere Kolonien (Form II) mit gezacktem, weinblattförmigem Rand, die nach der Mitte anstiegen und dicker wurden, etwa einem Kern vergleichbar mit einem deutlich unterscheidbaren, flacheren Hof. Diese dickere Stelle lag meist etwas exzentrisch, die Durchsichtigkeit der Kolonien war gering, in der Mitte am stärksten herabgesetzt. Die Oberfläche war feucht und erschien leicht geriffelt. Die Farbe war meist etwas bläulich. Eine Mischung beider Wuchsformen haben wir nicht beobachtet; es lag stets nur eine Art vor. Auf den Stuhlplatten haben wir die erst beschriebene Form ebenfalls am häufigsten gefunden; ziemlich oft jedoch auch der II. Form ähnelnde Kolonien. Doch zeigten sich bei letzteren Abweichungen in Form, Größe, Riffelung und Durchsichtigkeit, zum Teil ähnlichen den von Gildemeister bei manchen Stämmen beschriebenen Flatterformen. Dann haben wir auf den Stuhlplatten noch eine dritte sehr seltene Wuchsform gesehen: sehr kleine, helle, runde, glasig-durchsichtige Kolonien. Alle 3 Kolonienformen waren auf den mit Stuhlaufschwemmung beimpften Platten meist rein vorhanden, seltener kamen sie zusammen vor. Auf den mit Urin beimpften Platten haben wir die beiden ersten Wuchsformen ebenfalls beobachtet, auf wenigen Platten waren die der zweiten Form ähnelnden Kolonien sehr groß, bis zu drei und mehr Millimeter Durchmesser; es waren dann nur ganz wenige Kolonien auf der Platte. Die Kolonien auf den mit Duodenalinhalt beimpften Platten verhielten sich wie die aus Blutgalleröhrchen gezüchteten. Bei Ueberimpfung auf den Schrägagar zur Diagnose durch Agglutination gingen die beschriebenen Besonderheiten verloren; doch ist es möglich, daß dies durch die Dichte des Ausstrichs, die den Einzelkolonien keine freie Entwicklung ließ, vorgetäuscht wurde. Nur auf älteren Schrägagarkulturen trat bei manchen Stämmen ein verschiedenes Verhalten auf; ein Teil der Kolonien, und zwar waren es einzeln stehende an der Spitze des Schrägagars, zeigten eine große, etwas zackige, trübe Scheibenform. Auch diese verschwand bei Weiterimpfung auf frischen Agar. Ein unterschiedliches Verhalten der beschriebenen Formen bei der Agglutination und der Prüfung in der bunten Reihe haben wir nicht gesehen.

Variationen der Form beschrieb an zwei bis drei Monate alten Laboratoriumsstämmen Baerthlein. Er teilte die dabei entstehenden Wuchsformen in 3 Hauptgruppen ein; bei kurzfristigen Weiterzüchtungen blieben diese konstant, bei Ausstrichen alter Kulturen trat wieder eine Aenderung ein. Teils wuchsen dieselben Formen, teils solche, die zu den anderen

Gruppen gehörten. Kulturell und serologisch fanden sich keine wesentlichen Differenzen. Ähnliche Befunde bei alten Stämmen beschrieben in der Folgezeit v. Lingelsheim und Bernhardt und Ornstein; diese fanden bei den Variationsformen, wenigstens teilweise, ein abweichendes serologisches Verhalten. Bernhardt gab später eine genaue morphologische Aufstellung der gefundenen Wuchsformen. Er unterschied:

- I. Den Normaltyp.
- II. Kolonien, die gleichfalls hell und rund erschienen, aber in der Mitte eine kleine Delle aufwiesen.
- III. Solche, die gebuckelt und etwas gezackt erschienen und peripher allerfeinste Rippenbildung aufwiesen. Diese leiten über zu
- IV. Solchen, die eine Art Plateau darstellen mit nicht regelmäßigen Rändern, deren Oberfläche wie chagrinirt erschien.
- V. Unregelmäßig geränderte, oft weinblattartige Formen, die, besonders bei der Betrachtung mit schwacher Vergrößerung, eine eigentümliche, feine Aenderung aufwiesen; häufig zeigten diese Kolonien einen höckrig-buckeligen Rand und waren im Innern von zahlreichen unregelmäßigen Rippen durchlaufen. Diese Rippen stellen offenbar nichts anderes als eine starke Chagrinierung dar.
- VI. Trockene, ausgesprochene Weinblattformen.
- VII. Milzbrandähnliche Kolonien mit gelockten Rändern.

Bernhardt betont, daß Uebergangsformen zwischen den beschriebenen nicht selten seien. Zwergkolonien aus alten Stämmen beschrieb Eisenberg; aus frischen Stämmen konnten sie Jakobsen, Fromme und Goebel züchten, wobei es sich als besondere Eigentümlichkeit der Zwergkolonien herausstellte, daß sie auf Endoagar die Normalform annahmen. Die Beobachter glauben, dem hierbei verwendeten Natriumsulfid eine wachstumsbegünstigende Rolle zuerkennen zu sollen. Später beschrieben jedoch Eisenberg und Gildemeister Zwergformen aus frischem Material, die auch auf dem Endoagar als solche wuchsen. Das serologische Verhalten der Zwergformen war teils unverändert, teils war die Agglutinationsfähigkeit herabgesetzt. Variationserscheinungen, die den zuerst beschriebenen entsprachen, beschrieben bei Züchtungen aus frischem Material Gildemeister und Baerthlein. Als Ursache für diese Varianten werden von allen diesen Beobachtern äußere Einflüsse angenommen, die auf die Stoffwechselvorgänge einwirken und geeignet erscheinen, hierdurch Variationsbildungen des Plasma hervorzurufen, die durch die Art der Stämme bedingt sind. Umstritten ist, ob es sich dabei um echte Mutationen handelt.

Will man unsere Kolonien nach dem Bernhardtschen Schema klassifizieren, würde unsere Form I der Normalform entsprechen, die Form II zu den Kolonien unter Nr. 5 gehören. Daß auch wir Uebergänge und abweichende Formen beobachteten, ist bereits gesagt. Als dritte Form kämen noch die den Zwergformen entsprechenden Kolonien hinzu. Längere Züchtungsversuche und Beobachtungen über das Verhalten der einzelnen Formen konnten wir leider nicht anstellen, doch scheinen diese nur vorübergehend bestanden zu haben, da wir Abweichungen der Form auf den Schrägagar nicht mehr fanden (s. obige Einschränkung). Wir glauben daher am meisten an Modifikationen der Wuchsform eines oder mehrerer Stämme, die nur vorübergehend bestanden. Die Entstehung derselben wäre zu einem Teil auf Einflüsse des Nährbodens zurückzuführen; besonders bei der stark hemmenden Reinblauplatte, denn nur auf dieser haben wir Variationen der Form gesehen, so daß wir Schröders Urteil über den häufigen atypischen Wuchs auf der Reinblauplatte bestätigen müssen. — Daß der Einfluß der Nährböden auf die Bakterien und deren Verhalten ein großer ist, ist ja immer wieder in allen einschlägigen Arbeiten betont. — Auch die meisten anderen Beobachtungen von Variationsformen bei Züchtungen aus frischem, von Patienten stammendem Material sind auf einem hemmenden Nährboden gemacht. Zu diesen Nährböden werden die verschiedensten Salze, Farbstoffe und andere Substanzen hinzugesetzt, und es spielen sich die verschiedensten chemischen und physikalischen Prozesse ab, die auch bei der sorgfältigsten Nährbodenbereitung nicht immer gleich laufen. Aenderungen des Salzgehalts, der pH usw. werden, besonders in verschiedenen Portionen, nicht ganz zu vermeiden sein. Daß dieses eine Rolle spielt, ist auch in der neuesten Literatur (Wohlfeil, Clauberg) wieder bestätigt. Ferner könnten die hemmenden Substanzen dieser Nährböden in der gebräuchlichen Konzentration

nicht nur einen wachstumsverhindernden Einfluß auf die Begleitkeime haben, sondern möglicherweise die Fähigkeit, die Wuchsform des Typhusbazillus zu variieren. Für den Reinbläunährboden möchten wir jedenfalls einen solchen, den Stoffwechsel und damit das Wachstum der Bakterien stärker verändernden Einfluß annehmen. Das Eisenberg und Gildemeister auf nicht hemmenden Nährböden Variationsformen aus frischem Material beobachteten, zeigt jedoch, daß auch noch andere Einflüsse eine Rolle spielen, die teils im Alter und Feuchtigkeitsgehalt des Nährbodens (v. Lingelsheim, Eisler und Silberstein) teils in der Temperatur (Almquist) zu suchen sind. Weiter spielen eine große Rolle die Einwirkungen während des Aufenthalts im erkrankten Organismus (im Serum, im Darmtraktus usw.), bzw. das Zusammenleben mit anderen Bakterien im Darmkanal. Neuerdings konnte Gildemeister zeigen, daß er die von ihm beschriebenen Flatterformen erhielt, wenn er die Platten mit Aufschwemmungen beimpfte, in denen lytisches Agens vorhanden war, auch Otto, Munter und Winkler, Kauffmann führen Veränderungen des Wachstums auf Bakteriophagen zurück.

Das Aussehen der Paratyphus B-Kolonien war denen des Typhus gegenüber gleichmäßiger und wich im allgemeinen nicht von dem bekannten ab. Im übrigen haben wir uns mit der Diagnose Paratyphus B begnügen und aus Mangel an Zeit auf weitergehende Differenzierungen der einzelnen Stämme, ob es sich um einen echten Paratyphus B oder um zur Gruppe der Fleischvergifter bzw. Breslau zu rechnende Stämme handelte, verzichten müssen. Da die Kulturen sehr häufig Schleimwallbildung zeigten, handelte es sich wohl meist um den Typus Schottmüller.

Die bei Durchsicht der Platten verdächtig erscheinenden Kolonien sind mit einer orientierenden Agglutination geprüft; die dabei benutzte Technik ist in der Zusammenstellung über die Nissle-Untersuchung beschrieben. Die Probeagglutination erfolgte bei den Typhuskulturen meist sehr rasch, oft beinahe schlagartig. Auch die endgültige Austitrierung mit hochwertigem Immunserum — aus dem Institut für Infektionskrankheiten „Robert Koch“ — erfolgte im allgemeinen prompt nach 2 Std. Brutschrankaufenthalt; in manchen Fällen war sie schon nach etwa einer $\frac{1}{2}$ Std. zu beobachten. Aufgefallen ist uns diese prompte Agglutination während der Epidemie im Gegensatz zu Typhusstämmen aus einem kleinen, örtlich beschränkten Erkrankungsherd in der Umgebung Hannovers 1927. Wir möchten diese prompte Agglutination noch besonders unterstreichen, da zur Erklärung der den unseren ähnlichen Untersuchungsergebnisse der Jenenser Epidemie von Kalthoff auf die Annahme eines schwer agglutinierbaren Stammes zurückgegriffen ist. Unter den ganzen Untersuchungen der Typhusstämmen haben wir es ferner nur ein einziges Mal beobachtet, daß ein Stamm durch das Testserum, das einen Titer 1:10000 hatte, nur bis zu einer Verdünnung 1:7500 agglutiniert wurde. Es handelt sich um einen aus Stuhl gezüchteten Stamm, dessen sonstiges Verhalten nicht von dem der anderen abwich.

Auffallend war, daß bei sämtlichen Agglutinationsversuchen stets eine grobflockige Mitagglutination der Typhusstämmen durch das Paratyphus B-Serum in einer Verdünnung 1:500, manchmal auch 1:5000, eintrat, ein Fehlen ist niemals beobachtet. Das verwendete Paratyphus B-Testserum war ein polyvalentes Serum mit einem Titer 1:20000. Auch zuerst angewandte Paratyphus B-Seren mit einem niedrigeren Titer (1:2000 bzw. 1:3200) zeigten eine Mitagglutination der Typhusbazillen in einer Verdünnung 1:100 oder 1:200. Eine derartige Mitagglutination auch bei hochwertigen Immunseren ist an sich nichts besonderes und häufiger erwähnt (Bruns und Kayser, d'Amato u. a.), allerdings meist in niedrigeren Verdünnungen als

bei unseren Stämmen. Auffallend erscheint nur die Konstanz dieser Mitagglutination; zumal es sich um Stämme handelt, die aus verschiedenem Material von verschiedenen Patienten und auf verschiedenen Nährböden gezüchtet wurden, also Einflüssen unterworfen waren, von denen wir wissen, daß sie eine erhebliche Aenderung des serologischen Verhaltens der Typhusbazillen hervorrufen können. Man sollte daher annehmen, daß bei der großen Zahl der Untersuchungen, entsprechend den auf gleiche Ursachen zurückzuführenden Variationen des Wachstums, der eine oder andere Stamm ein abweichendes serologisches Verhalten gezeigt hätte. Diese auffallende Gleichmäßigkeit des serologischen Verhaltens der gezüchteten Typhusstämme läßt vielmehr daran denken, daß es sich bei der Epidemie tatsächlich um einen einzigen Hauptstamm gehandelt hat. Bei der großen Zahl der plötzlich und fast gleichzeitig erkrankten Personen spräche das aber gegen jede Erklärung der Epidemie durch Einzelinfektionen aus verschiedenen Quellen. Worin die Ursache dieser so gleichmäßigen Mitagglutination zu suchen ist, ist schwer zu sagen. Am wahrscheinlichsten erscheint es, daß der Typhusstamm einen der Paratyphusgruppe verwandten Rezeptor hatte, der durch das entsprechende Paratyphusagglutinin ausgeflockt wurde. Hierfür spricht, daß es sich um eine grobflockige Mitagglutination handelte, die in der Typhusgruppe im allgemeinen als spezifisch gilt (Weil und Felix). Daß die vorhergehende Wasserkrankheit, die von manchen auf einen Paratyphus zurückgeführt wird (s. Bemerkung von Neufeld), im Sinne einer Paragglutination auf den Typhusstamm gewirkt hat, ist nicht anzunehmen. Die Mitagglutination ist auch bei den aus dem Blut gezüchteten Stämmen beobachtet und würde dann kaum so gleichmäßig ausgefallen sein. Außerdem ist ein sicherer Anhalt, daß die Wasserepidemie durch einen zur Paratyphusgruppe gehörenden Keim hervorgerufen wurde, niemals gefunden.

In 7 Fällen konnten wir eine Mitagglutination des Typhusstammes durch das Paratyphusserum bis zum Titer beobachten. Das verwendete polyvalente Paratyphusserum hatte einen Titer 1:2000, das Typhusserum 1:10000. Von welcher Tierart das Serum stammte, war nicht angegeben. Die Kolonien entsprachen einer der beiden für die Typhuskolonien beschriebenen Formen. Die Prüfung in der bunten Reihe ergab:

Bouillon	Trübung mit geringem Bodensatz.
Lackmusmolke	geringe Rötung.
Barsiekow-Milchzuckerlösung	geringe Rötung.
Milch	unverändert.
Neutralrot	„

Also ein durchaus normales Verhalten.

Die Stämme selbst waren aus Blut (2), Duodenalsaft (3) und Stuhl (2) gezüchtet; sie stammten von 6 Patienten; je ein Stamm aus Blut und aus Duodenalsaft sind von einem Patienten. Bei zwei dieser Patienten wurden später andere Stämme gewonnen, die gegen hochwertiges Paratyphus-Immunserum (Titer 1:20000), das gewöhnliche serologische Verhalten zeigten. Eine Spontanagglutination lag nicht vor, auch handelte es sich nicht um eine Mischkultur von Typhus und Paratyphus B-Bazillen oder um die von v. Lingelsheim beschriebenen schwer verreibbaren Q-Formen, die eine Agglutination vorgetäuscht hatten. Einen Versuchsfehler glauben wir ausschalten zu können, da es sich um Reihenversuche handelte; außerdem hatte die Wiederholung des Versuchs bei einem Stamm nach 2 Tagen dasselbe Ergebnis.

Eine derartige Mitagglutination bis zum Titer beschrieb Wendlandt bei einem aus Stuhl gezüchteten Paratyphus B-Stamm. Sein Stamm zeigte kulturell kein irgendwie abweichendes Verhalten; die besondere serologische Reaktion besaß er noch nach 2 Monaten. Bei

Variationsversuchen mit alten Paratyphus B-Stämmen sah Baerthlein eine Variante sich abspalten, die ein typhusähnliches Wachstum hatte, Typhusserum bis zum Titer agglutinierte, während das Paratyphusimmunerum nicht mehr wie vorher bis zum Titer agglutiniert wurde. Das kulturelle Verhalten entsprach dem des Typhus, bei Weiterzüchtung verschwand diese Abweichung. Ähnliches beobachtete auch Köhlisch bei Züchtung im Rinderdarmschleim. Bei Züchtungen aus frischem Material sah Baerthlein Stämme, die verschiedene Kolonien bildeten und sich teils als Paratyphus B-Stämme erwiesen, teils ein ähnliches Verhalten an den Tag legten, wie die aus alten Kulturen gezüchteten Varianten des Paratyphus B. Baerthlein möchte diese als solche auffassen. Wagner konnte aus mit Galle angereichertem Blut, in dem sich auch Typhusbazillen fanden, Paratyphus B-Bazillen züchten, die ohne Gasbildung wuchsen. Mit ihnen gewonnenes Immunerum agglutinierte den Typhusstamm höher als die eigenen Stämme. Bei diesen Beobachtungen handelte es sich stets um eine Variation des Paratyphus B. Typhus- und Paratyphus B-Bazillen auf einer Platte, die mit Material von einem Typhuskranken beimpft war, sahen Bitter und R. Müller. Letzterer glaubt für seinen und Bitters Fall eine Mutation des Paratyphus B aus dem Typhus annehmen zu können. Ähnlich deuten auch Baerthlein und Wagner ihre oben geschilderten Befunde. Doch sind diese nach van Loghem nicht unbedingt hierfür beweisend, sondern sprechen nur für die große Ähnlichkeit beider Bazillenarten.

Auch wir möchten das oben geschilderte serologische Verhalten unserer Stämme nicht als eine Mutation bzw. einen Uebergang der einen Art in die andere ansehen, sondern die Erklärung vielmehr darin suchen, daß es sich um Stämme handelte, deren Mitagglutinationsvermögen durch irgendwelche äußeren Einflüsse (vgl. die Erörterung bei den Ursachen der Formabweichungen) stark erhöht war. Bei dem geringwertigen Paratyphus B-Serum konnte so leicht eine bis zum Titer gehende Agglutination eintreten. Für diese Auffassung spricht, daß wir die gleiche Beobachtung bei Anwendung des höherwertigen Immunerums niemals machen konnten, trotzdem auch hier höhere Mitagglutination — bis 1 : 5000 — beobachtet wurde; ferner die Berechnung der Zahlenverhältnisse: bei dem niedrigen Testserum war die Mitagglutination 1 : 100, meist 1 : 200; bei dem hochwertigen 1 : 500. Bei den genannten 7 Stämmen erreichte die Mitagglutination bis zum Titer mit 1 : 2000 den zehnfachen Wert der gewöhnlichen. Dasselbe quantitative Verhältnis besteht zwischen gewöhnlicher und höherer Mitagglutination bei dem hochwertigen Serum. Schließlich wiesen bei zwei dieser Patienten später gezüchtete Stämme das gewöhnliche Verhalten auf. Praktisch bedeutet diese Beobachtung eine Bestätigung der alten Forderung, nur hochwertige Immunerum zur Differenzierung der Stämme zu nehmen. Untersuchungen, wie lange sich die besondere serologische Reaktion hält, sind in größerem Umfange nicht gemacht; daß sie sich ein paar Tage hält, ist aus der oben erwähnten Wiederholung zu schließen.

Bei den Paratyphusstämmen haben wir Agglutinationshemmungen häufiger beobachtet; teils wurden sie durch das Testserum (Titer 1 : 20000) bis zu einer Verdünnung 1 : 5000, teils bis zu einer von 1 : 15000 agglutiniert. Besonders gehäuft waren diese Agglutinationshemmungen der Paratyphus B-Gruppe in den ersten Tagen der Epidemie. Es handelte sich um Stämme, die aus dem Blut von 6 Patienten gezüchtet wurden. Sie agglutinierten das damals verwendete niedrige Testserum (Titer 1 : 2000) nur bis zu den Verdünnungen 1 : 200 bis 1 : 800. Das kulturelle Verhalten zeigte bei allen Stämmen keine Besonderheiten. Da mit demselben Testserum in derselben Zeit andere Stämme bis zum Titer agglutinierten, kann ein Fehler im Serum nicht vorgelegen haben (nach Seiffert verändert das Paratyphusserum sehr rasch seinen Titer). Versuchsfehler sind auszuschließen. In einem der letzteren Fälle wurde später aus Stuhl und aus Duodenalsaft ein Paratyphus B-Stamm gezüchtet, der bis zum Titer agglutinierte. Für diesen Fall wäre als Ursache für das Verhalten des aus der Blutgalle gezüchteten Stammes eine Agglutinationshemmung anzunehmen, wie es von P. Th. Müller, Kirstein, Langer u. a. bei frisch aus dem Körper gezüchteten Stämmen beschrieben ist. Ob diese bei den anderen Stämmen

ebenfalls eine Rolle spielt, oder ob es sich um zu den Fleischvergiftungen gehörige kulturell handelte, können wir nicht sagen, da wir aus Zeitmangel eine weitergehende Differenzierung der Paratyphusgruppe unterlassen mußten.

Von den in Tabelle II unter „Sonstiges“ aufgeführten Untersuchungen ist nur bemerkenswert, daß es uns entgegen den Befunden anderer (s. bei Gaehtgens) in einer allerdings nur kleinen Anzahl von Liquoruntersuchungen niemals gelungen ist, Typhus- und Paratyphus B-Bazillen nachzuweisen. — Im Parotitiseiter haben wir niemals Typhusbazillen gefunden, sondern nur *Staphylococcus pyogenes aureus*. Soweit man daraus auf die Genese der Parotitis beim Typhus schließen kann, dürfte dieser Befund für unsere Fälle mehr für eine vom Munde aus ascendierende Infektion sprechen. Doch sind von anderen auch Typhusbazillen (Schottmüller) gefunden, so daß in anderen Fällen eine hämatogene metastatische Entstehung der Parotitis wahrscheinlich ist.

Sehr groß ist die Zahl der untersuchten Duodenalsäfte. Ueber die Zeit, wann diese gewonnen wurden, ist schon oben kurz berichtet. Wir haben die erhaltenen Duodenalsäfte in der ersten Zeit sofort auf je eine Endo- und Reinblauplatte ausgestrichen und uns mit diesem einmaligen Ausstrich begnügt. Irgendeinen Maßstab über die Höhe der so erzielten Züchtungsergebnisse konnten wir aus den uns zur Verfügung stehenden Literaturangaben nicht gewinnen, da systematische Untersuchungen, wie lange sich durchschnittlich Typhusbazillen in den Gallenwegen beim typhuskranken Menschen nach Ablauf des fieberhaften Stadiums halten, fehlen. Hinweise fanden wir bei Schottmüller, der angibt, daß nach Abklingen der Krankheit — damit ist wohl gemeint, nach Beendigung des fieberhaften Stadiums — noch lange mit der Anwesenheit von Typhusbazillen in der Galle zu rechnen ist; Hage und Brinkmann äußern sich dahin, daß sich in der dritten und den anschließenden Krankheitswochen die Galle noch überwiegend als infiziert erweist. Nach unseren bei Sektionen gemachten Gallenblasenuntersuchungen glauben wir annehmen zu können, daß etwa um die sechste bis siebente Woche die Typhusbazillen verschwunden sind — soweit es sich nicht um Lang- oder Dauerausscheider handelt. Ein ähnliches Ergebnis — etwa die 7.—8. Woche — geht nach einer lebenswürdigen Mitteilung von Herrn Dr. F. Stroebe, Sekundärarzt der inneren Abteilung, aus dem auf die Krankheitswochen berechneten Duodenaluntersuchungen der inneren Abteilung hervor. Hieran gemessen, schienen uns unsere Züchtungsergebnisse aus dem Duodenalsaft besserungsbedürftig, auch wenn man berücksichtigt, daß ein Teil der positiven Fälle infolge methodischer Mängel bei Entnahme des Duodenalsaftes, bzw. dem Versagen der Züchtungsmethoden immer unserer Aufmerksamkeit entgehen wird. Wir haben dann am Tage des Eingangs je eine Endo- und eine Reinblauplatte mit dem Duodenalsaft beimpft; der Rest ist in den Brutschrank gestellt und noch einmal nach 24- bzw. 48stünd. Anreicherung auf eine Reinblauplatte ausgestrichen. Die Resultate waren etwas besser, doch trat eine wesentliche Aenderung nicht ein. Die Erklärung hierfür dürfte in den von Küster und von Holthum und Löwenberg nachgewiesenen bakteriziden Kräften des normalen Duodenalsaftes zu suchen sein. Allerdings haben Brinkmann und Hage ebenso wie Henning und Lederer mit der Anreicherung im unvermischten Duodenalsaft recht gute Resultate gehabt, wenn auch zum Teil erst nach tagelangen Aufenthalt im Brutschrank, doch untersuchten sie sehr viel Fälle während des fieberhaften Stadiums. Henning und Lederer folgern aus ihren Ergebnissen mit Recht, daß die von Löwenberg im normalen Duodenalsaft gefundenen bakteriziden Kräfte beim Typhuskranken nicht vorhanden oder doch wenigstens stark herabgesetzt seien. Woran das liegt, ist schwer zu sagen; vielleicht spielt

eine Veränderung der Gallenzusammensetzung eine Rolle, um so mehr als Steinberg der Galle eine große Bedeutung für die bakterizide Fähigkeit des Duodenalsaftes beimißt. So kann sich das weniger günstige Ergebnis, das wir mit der Anreicherung des unvermischten Duodenalsaftes hatten, daraus erklären, daß wir vorwiegend Rekonvaleszenten untersuchten, bei denen diese bakteriziden Kräfte allmählich wieder ansteigen. Auch Löwenberg äußert in einer neueren Arbeit ähnliche Ansichten. Wir haben dann nach dem ersten Ausstrich auf Endo- und Reinblauplatten den Rest des Materials mit ungefähr der gleichen Menge gewöhnlicher alkalischer Nährbouillon oder Traubenzuckerbouillon versetzt. Auf diese Weise haben wir häufiger nach 24- oder 48stünd. Bebrütung ein positives Ergebnis erzielt bei negativem ersten Ausstrich. Es hat also eine Anreicherung stattgefunden. Die von Henning und Lederer als gering bezeichnete Zahl der im Duodenalsaft gefundenen Keime hat bei unseren Untersuchungen gewechselt. Gezählt haben wir die Kolonien nicht, doch glaube ich, daß ihre Menge für den Durchschnitt mit 30—50 nicht zu hoch gegriffen ist. Bei Ausstrich aus dem im Brutschrank angereicherten Duodenalsaft-Bouillongemisch war die Platte öfter dicht bewachsen, ähnlich wie man es bei Platten sieht, die mit in Galle angereichertem Blut beimpft sind.

Die Anreicherung betrifft bei unserem Verfahren nicht nur Typhus- und Paratyphus B-Bazillen, sondern auch andere Keime, die sich im Duodenum finden bzw. dahin verschleppt werden. Es empfiehlt sich daher, für die Typhusdiagnose zu den Ausstrichen aus der Duodenalsaft-Bouillon-Mischung nur eine stark hemmende Platte zu benutzen. Wir haben mit der Reinblauplatte gute Ergebnisse gehabt.

Eine Anreicherung von Keimen im Duodenalsaft haben wir mit dieser Methode übrigens nicht nur bei Typhuskranken, sondern auch bei anderen Patienten gesehen. Wir möchten dieses Verfahren daher allgemein zur bakteriologischen Untersuchung von Duodenalsäften empfehlen.

Auf Befunde von Typhus- und Paratyphus B-Bazillen bei demselben Patienten (13 Fälle) und andere Mischinfektionen soll hier nicht eingegangen werden, da sie vorwiegend klinisches Interesse beanspruchen. Soweit sie bakteriologisch Interessantes bieten, ist es im Bericht von Herrn Professor Dr. Stroebe erwähnt.

Literatur-Verzeichnis.

I. Größere Abhandlungen:

1) Fornet, Immunität bei Typhus. (Kolle-Wassermann, Handb. d. pathog. Mikroorganismen. Bd. 3. 1913). — 2) Gaetgens, Abdominaltyphus. (Lubarsch-Ostertag, Ergebnisse d. Pathologie. Bd. 18. I. 1915). — 3) Loele, Paratyphus. (Ebenda). — 4) Kutscher, Abdominaltyphus. (Kolle-Wassermann, Handb. d. pathog. Mikroorganismen. Bd. 3. 1913). — 5) Schottmüller, Ueber typhöse Erkrankungen. (Handb. d. Inner. Medizin von Bergmann-Stähelin. 2. Aufl. Bd. 1. II). — 6) Stroebe, Bakteriologischer Teil des Tätigkeitsberichtes der Gutachter-Kommission über die Typhusepidemie in Hannover 1926. — 7) Uhlenhuth u. Hübener, Infektiöse Darmbakterien der Paratyphus- und Gärtner-Gruppe, einschließlich Immunität. (Kolle-Wassermann, Handb. d. pathog. Mikroorganismen. Bd. 3. 1913). — 8) Verhandlungen d. Dtsch. Gesellsch. f. Mikrobiolog. 1925. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 97). Bei den ersten dieser Arbeiten siehe auch die Angaben über die ältere Literatur.

II. Neuere Arbeiten:

1) Abel, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 78. S. 284. — 2) Ders., Ebenda. Bd. 85. S. 349. — 3) Almquist, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 48. S. 175. — 4) Baerthlein, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 81. S. 369. — 5) Bitter, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 85. S. 339. — 6) Ders., Ebenda. Bd. 85. S. 351. — 7) Clauberg, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 107. S. 184. — 8) Eisler u. Silberstein, Ztschr. f. Hyg. Bd. 83. S. 267. — 9) Eisenberg, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 80. S. 385. — 10) Gildemeister, Centralbl. f. Bakt.

Abt. I. Orig. Bd. 78. S. 209 (hier auch weitere Literatur). — 11) Ders., Ebenda. Bd. 79. S. 49. — 12) Ders., Berl. klin. Wochenschr. 1921. S. 1357. — 13) Hage, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 91. S. 25. — 14) Hage u. Brinkmann, Mitteil. a. d. Grenzgebieten d. Med. u. Chir. Bd. 37. S. 263. — 15) Henning u. Lederer, Münch. med. Wochenschr. 1927. Nr. 14. — 16) Hohn, Münch. med. Wochenschr. 1922. S. 7. — 17) Jürgens, Ztschr. f. klin. Med. Bd. 108. S. 67. — 18) Kalthoff, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 79. S. 145. — 19) Kauffmann, Ztschr. f. Hyg. Bd. 106. S. 520. — 20) Kleinsorgen, Ztschr. f. Hyg. Bd. 91. S. 353. — 21) Köhlisch, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 81. S. 6. — 22) Küster u. v. Holtum, zit. bei Henning und Lederer. — 23) Langer, Ztschr. f. Hyg. Bd. 83. S. 267. — 24) van Loghem, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 83. S. 401. — 25) Löwenberg, Klin. Wochenschr. 1926. S. 548. — 26) Ders., Referiert Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 89. S. 346. — 27) Neufeld, Dtsch. med. Wochenschr. 1927. S. 687. — 28) Otto, Munter u. Winkler, Ztschr. f. Hyg. Bd. 96. S. 128. — 29) Otto u. Munter, Bakteriophagie. (Weichardts Ergebnisse. Bd. 6. S. 1.) — 30) Prausnitz u. Preiss, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 91. S. 215. — 31) Schmitz, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 78. S. 231. — 32) Ders., Ebenda. Bd. 80. S. 1. — 33) Seiffert, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. ? S. 264. — 34) Steinberg, Weitere bakteriolog. Untersuchungen von Harn, Galle und Duodenalsaft. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 105. S. 291). — 35) Wagner, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 71. S. 25. — 36) Weil u. Felix, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 70. S. 541. — 37) Wendlandt, Ztschr. f. Hyg. Bd. 83. S. 386. — 38) Wohlfeil, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 105. S. 15.

Nachdruck verboten.

Ueber den biologischen Unterschied zwischen nativem und gekochtem Antigen von Pneumokokken.

I. Mitteilung: Unterschied bei Erzeugung des Opsonins im Blute.

[Aus dem chirurgischen Laboratorium der Kais. Universität zu Kyoto
(Prof. Dr. R. Torikata).]

Von **S. Yamamoto.**

Mit 4 Kurven im Text.

Einleitung.

Ueber den Unterschied zwischen nativen und gekochten mikrobiotischen Antigenen (Kulturfiltraten) wurde bei der **Präzipitation** von Torikata, Uyeda und Kataoka, bei der **Komplementbindungsreaktion** von Torikata, Uyeda, Fujimoto, Kataoka, Yamasaki und Fujimori, bei der **Phagozytose** von Suguro, Fujimori, Ischimoto, Imamaki und Hidaka, bei der **Agglutininbildung** von Takamatsu und Tsudzuki, bei Erwerbung allgemeiner bzw. lokaler aktiver **Immunität** von Torikata und Fujimoto, wie auch von Uyeda, Hirayama, Torikata und Imamaki bezüglich verschiedener Erreger berichtet¹⁾. Im folgenden wollen wir prüfen, wie sich dies bei immunisatorischer Erzeugung des gegen Pneumokokken gerichteten Opsonins verhält.

Testmaterialien.

1) **NF.** Eine 7tägige Bouillonkultur von Pneumokokken wurde durch Silberschmidt-Kerze getrieben. Das so erhaltene wasserklare Filtrat bezeichnen wir mit **NF** (Nativkulturfiltrat).

2) **FK.** Das Nativkulturfiltrat wurde im Wasserbade bei 100° C während ½ Std. erhitzt. Dabei entstand weder ein Niederschlag noch eine Trübung. Das auf diese Weise erhaltene Testmaterial bezeichnen wir mit **FK** (gekochtes Kulturfiltrat). **NF** und **FK** enthalten 0,5proz. Karbolsäure zum längeren Aufbewahren.

1) Ueber die Literaturangabe s. Imamaki, Beitr. z. Klin. d. Tuberkul. Bd. 65. 1927 und Torikata u. Fujimoto, Journ. of Immunol. Vol. 13. 1927.

3) **Pneumokokkenvakzine** zur Immunisierung der Tiere. Von der oben erwähnten Bouillonkultur zentrifugierten wir die Kokkenleiber ab, um sie in einer beliebigen Menge von 0,85proz. NaCl-Lösung zu suspendieren, nachdem sie damit 3mal gewaschen worden waren. 1,0 ccm dieser Aufschwemmung enthielt ca. 0,0035 ccm Kokkenleiber. Die Aufschwemmung wurde im Wasserbade bei 60° C während einer ½ Std. gehalten und dann mit 0,5proz. Karbolsäure versetzt.

4) **Pneumokokkenaufschwemmung** zur Untersuchung der Phagozytose. Von einer 24stündigen Agarkultur wurden die Pneumokokken in 0,85-proz. Kochsalzlösung suspendiert. 1,0 ccm dieser Suspension enthielt ca. 0.00035 ccm Kokkenleiber.

Versuchs-
anordnung.

Normalen Kaninchen (Männchen), von ca. 1,6—2,0 kg Körpergewicht, von denen je 2 eine Versuchsgruppe bilden, injizierten wir iv. eine Mischung der Pneumokokkenvakzine mit NF, FK, Bouillon bzw. NaCl-Lösung, um dann am 5., 10., 15., 20., 25. und 30. Tage nach der Injektion den Opsoninindex nach Wright und Phagozytatwert nach Suguro festzustellen.

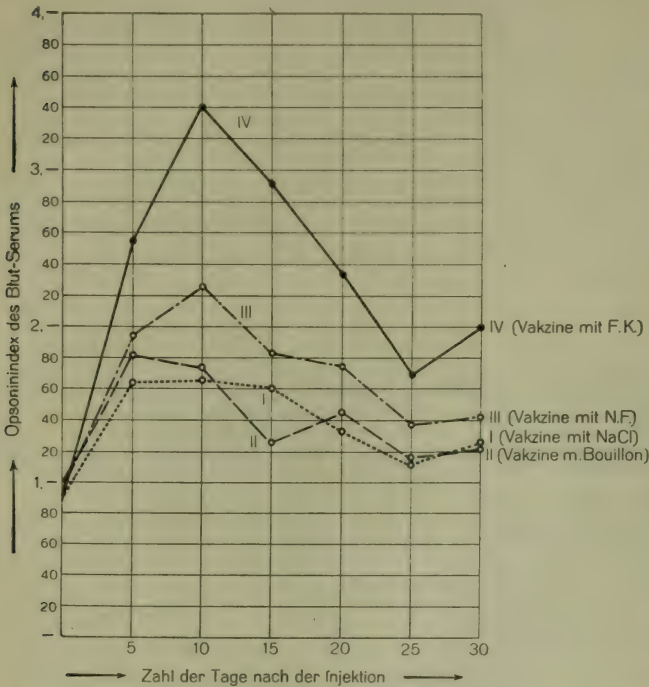


Fig. 1. Schwankung des Opsoninindices im Blutsserum von Kaninchen.

- I. — — — — — Vakzine mit NaCl-Lösung (0,5 ccm),
- II. — — — — — „ „ Bouillon (0,5 „),
- III. — — — — — „ „ NF (0,5 „),
- IV. — — — — — „ „ FK (0,5 „).

Versuch I.

Opsoninindex der Sera bei 0,5 ccm von NF bzw. FK.

Die Ergebnisse der Versuche sind in Tab. I enthalten und gleichzeitig in Fig. 1 graphisch dargestellt.

Tabelle I.
Durchschnittlicher Opsoninindex von je 2 Kaninchen.

Kaninchen erhielten intravenös 0,5 ccm Vakzine, vermisch mit 0,5 ccm von	Opsoninindex des Blutserums						
	Vor der Injektion	Nach der Injektion, und zwar am					
		5. Tag	10. Tag	15. Tag	20. Tag	25. Tag	30. Tag
NaCl-Lösung ¹⁾	0,85	1,63	1,65	1,61	1,33	1,16	1,24
Bouillon	0,94	1,82	1,76	1,28	1,44	1,18	1,23
NF	0,91	1,94	2,24	1,82	1,75	1,38	1,41
FK	0,89	2,54	3,38	2,90	2,34	1,70	2,01

1) Dieselbe enthält ebenso wie die anderen Testmaterialien: Bouillon, NF und FK, auch 0,5proz. Karbolsäure.

Versuch II.

Opsoninindex bei 1,0 ccm der Testmaterialien.

Die Ergebnisse der Versuche dürften aus Tab. II und Fig. 2 deutlich hervorgehen.

Tabelle II.

Durchschnittlicher Opsoninindex von je 2 Kaninchen.

Kaninchen erhielten intravenös 0,5 ccm Vak- zine, vermischt mit 1,0 ccm von	Opsoninindex des Blutserums						
	Vor der In- jektion	Nach der Injektion, und zwar am					
		5. Tag	10. Tag	15. Tag	20. Tag	25. Tag	30. Tag
NaCl-Lösung	0,98	1,45	2,23	2,26	1,74	1,49	1,30
Bouillon	1,20	1,68	2,46	1,72	1,47	1,35	1,38
NF	1,09	1,72	2,41	2,04	2,18	1,82	1,77
FK	0,87	3,19	4,70	3,89	2,71	2,48	2,18

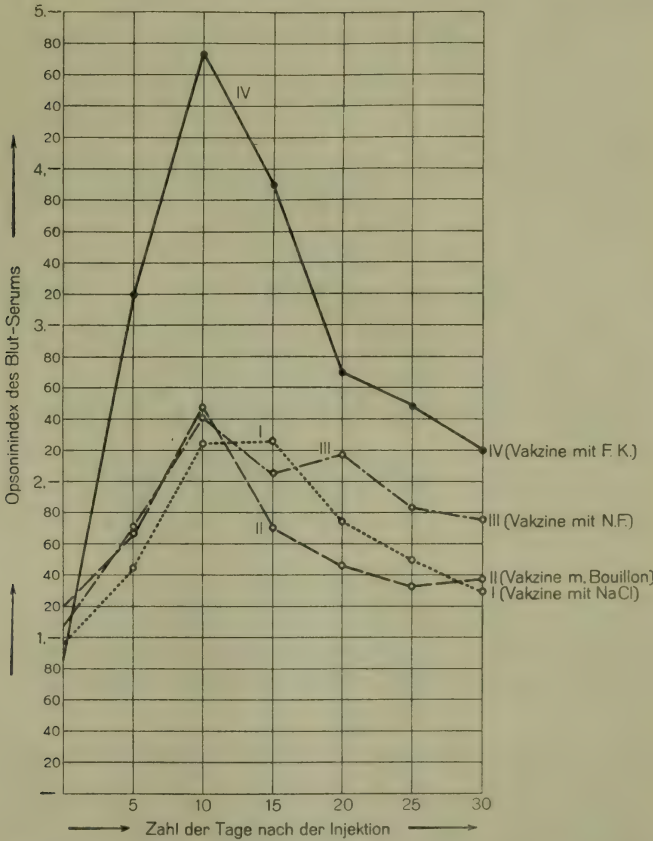


Fig. 2. Schwankung des Opsoninindices im Blutserum von Kaninchen.

- I. ————— Vakzine mit NaCl-Lösung (1,0 ccm),
II. - - - - - " " Bouillon (1,0 "),
III. " " NF (1,0 "),
IV. ————— " " FK (1,0 ").

Versuch III.

Phagozytatwert bei 0,5 ccm der Testmaterialien.

Die Sera der Versuchstiere beim Versuch I ergaben die in Tabelle III und in Fig. 3 zusammengestellten Phagozytatwerte in vitro.

Tabelle III.

Durchschnittlicher Phagozytatwert in vitro bei den Seris der Tiere vom Versuch I.

Kaninchen erhielten intravenös 0,5 ccm Vakzine, vermischt mit 0,5 ccm von	Schwankung des Phagozytatwertes in vitro beim Serum						
	Vor der Injektion	Nach der Injektion, und zwar am					
		5. Tag	10. Tag	15. Tag	20. Tag	25. Tag	30. Tag
NaCl-Lösung	60	108	101	109	80	86	92
Bouillon	66	115	105	90	84	89	92
NF	63	127	132	117	91	99	103
FK	62	153	184	180	121	121	133

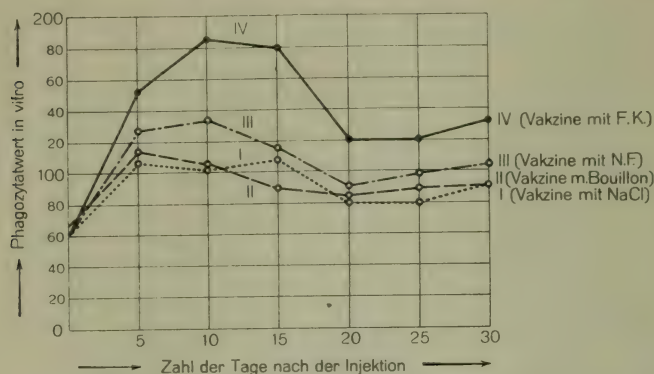


Fig. 3. Schwankung des Phagozytates im Blutserum von Kaninchen.

I. —————	Vakzin mit NaCl-Lösung	(0,5 ccm),
II. - - - - -	„ „ Bouillon	(0,5 „),
III. - . - . -	„ „ NF	(0,5 „),
IV. —————	„ „ FK	(0,5 „).

Versuch IV.

Phagozytatwert bei 1,0 ccm der Testmaterialien.

Die Sera der im Versuch II angegebenen Tiere wiesen noch die in Tabelle IV und in Fig. 4 zusammengestellten Phagozytatwerte in vitro auf.

Tabelle IV.

Durchschnittlicher Phagozytatwert in vitro bei den Seris der Tiere vom Versuch II.

Kaninchen erhielten intravenös 0,5 ccm Vakzine, vermischt mit 1,0 ccm von	Schwankung des Phagozytatwertes in vitro beim Serum						
	Vor der Injektion	Nach der Injektion, und zwar am					
		5. Tag	10. Tag	15. Tag	20. Tag	25. Tag	30. Tag
NaCl-Lösung	73	129	153	175	110	116	140
Bouillon	89	149	164	141	98	104	147
NF	84	152	161	156	135	133	179
FK	70	257	288	286	162	164	211

Betrachtung der Versuchsergebnisse.

1) Die durch Einverleibung einer Pneumokokkenvakzine herbeigeführte immunisatorische Erzeugung des gegen Pneumokokken gerichteten Antikörpers im Serum der Versuchstiere, der sich im Opsoninindex und Phagozytätwert dokumentiert, konnte unter Mitwirkung von gleichnamigem nativem sowie gekochtem Kulturfiltrat, NF und FK, beträchtlich gesteigert werden.

2) Dabei stellte sich heraus, daß die Erhöhung der Immunität bei **FK**-Tieren eine bei weitem größere ist als bei **NF**-Tieren.

Um den biologischen Unterschied zwischen nativem und gekochtem Kulturfiltrat (NF und FK) in ihrer die Erwerbung der Immunität fördernden Eigenschaft noch präziser hervortreten zu lassen, haben wir aus den Tabellen I bis IV den maximalen und minimalen Wert der Opsoninindizes bzw. des Phagozytates vom **NF** einerseits und vom **FK** andererseits nebeneinander gestellt, wie dies aus Tabelle V ersichtlich ist.

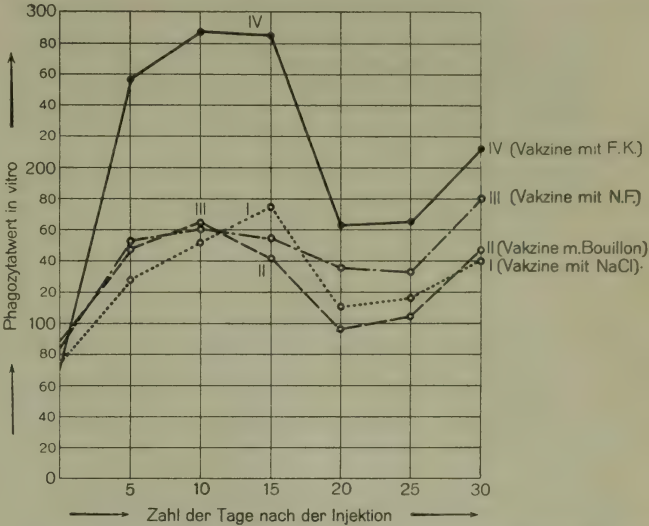


Fig. 4. Schwankung des Phagozytates im Blutserum von Kaninchen.

- I. ————— Vakzine mit NaCl-Lösung (1,0 ccm),
- II. - - - - - " " Bouillon (1,0 "),
- III. - . - . - . " " NF (1,0 "),
- IV. ————— " " FK (1,0 ").

Tabelle V.

Maximale und minimale Werte vom Opsoninindex und Phagozytät, herbeigeführt durch **native** und **gekochte** Kulturfiltrate.

Orig. Tab.	Kulturfiltrat	Menge ccm	(%)	Opsoninindex		Phagozytät	
				max. (%)	min. (%)	max. (%)	min. (%)
I, III II, IV	NF	0,5	(100)	2,24 (100)	1,38 (100)	132 (100)	91 (100)
	NF	1,0	(200)	2,41 (103)	1,72 (125)	161 (122)	133 (146)
I, III II, IV	FK	0,5	(100)	3,38 (100)	1,70 (100)	184 (100)	121 (100)
	FK	1,0	(200)	4,70 (139)	2,18 (128)	288 (156)	162 (134)
	Bouillon	0,5	(100)	1,82 (100)	1,18 (100)	115 (100)	84 (100)
	Bouillon	1,0	(200)	1,35 (114)	1,35 (114)	164 (143)	98 (117)

Daraus ersieht man folgendes:

1) Das gekochte Filtrat (**FK**) ergab gegenüber dem nativen (**NF**) in den Gebrauchsdosen von 0,5 und 1,0 ccm einen immer größeren (absoluten)

Wert von Opsoninindex und Phagozytat, und zwar sowohl bei deren maximalen als auch minimalen Werten.

2) Der mit der Steigerung der Gebrauchsdosis von 0,5 ccm auf 1,0 ccm Hand in Hand gegangene Grad der Erhöhung der Opsoninindizes bzw. Phagozytatwerte war ein bei weitem größerer beim gekochten Filtrate als beim nativen.

3) Dieser Befund zeigt uns, daß im nativen Kulturfiltrate außer derjenigen Energie, die die Erwerbung der Immunität fördert, noch eine andere dagegen antagonistisch wirkende Energie enthalten sein muß, die bei Vergrößerung der Menge des Testmaterials von 0,5 ccm auf 1,0 ccm gegenüber der anderen (fördernden) insofern mehr zur Geltung kommt, als der Grad der Steigerung der Immunität beim nativen Filtrate ein beträchtlich kleinerer ist als beim gekochten.

4) Somit glauben wir die **Impedinerscheinung** auch bei Erzeugung des **Opsonins** im Blute nachgewiesen zu haben.

Zusammenfassung.

1) 0,5 ccm Pneumokokkenvakzine ergab als maximalen Opsoninindex **1,65** bei der Vermischung mit karbolisierter NaCl-Lösung, **1,82** bei der mit neutraler Bouillon, **2,24** bei der mit **NF** (nativem Filtrat einer Bouillonkultur von Pneumokokken) und **3,38** bei der mit **FK** [dem $\frac{1}{2}$ Std. lang der Siedehitze (100° C) ausgesetzten NF]; und zwar überall in der Menge von 0,5 ccm (Tab. I). Dabei betrugen die maximalen Phagozytatwerte **109** bei NaCl-Lösung, **115** bei Bouillon, **132** bei **NF** und **184** bei **FK**. — 2) Der maximale Opsoninindex, der infolge der Mitwirkung von 1,0 ccm vorerwähnter Testmaterialien erzeugt wurde, betrug unter sonst gleichen Bedingungen **2,26** bei NaCl-Lösung, **2,46** bei Bouillon, **2,41** bei **NF** und **4,7** bei **FK** (Tab. II und z. T. Tab. V). Dabei waren die maximalen Phagozytatwerte folgende: **175** bei NaCl-Lösung, **164** bei Bouillon, **161** bei **NF** und **288** bei **FK**. — 3) Die Gewinnung der Immunität, die durch Einverleibung einer Pneumokokkenvakzine herbeizuführen ist, konnte unter Mitwirkung von einfacher Bouillon etwas, unter der eines nativen Filtrates der Pneumokokken (**NF**) beträchtlich und unter der eines gekochten Filtrates (**FK**) am höchsten gesteigert werden. — 4) Die Erhöhung der Gebrauchsdosis von 0,5 ccm auf 1,0 ccm steigerte den maximalen Opsoninindex von **2,24** nur auf **2,4** (100:107) beim Gebrauch von **nativem** Filtrate, jedoch von **3,38** auf **4,70** (100:139) bei dem von gekochtem Filtrate, **FK** (Tab. V). — 5) Daraus ersieht man, daß nicht im gekochten, sondern im nativen Kulturfiltrate mindestens 2 sich antagonistisch auswirkende Energien enthalten sein müssen: a) die die Gewinnung des Organismus an Immunität **fördernde** und b) die eben dieselbe **verhindernde**, von denen die letztere (verhindernde) infolge der Erhöhung der Gebrauchsdosis von **NF** mehr zur Geltung kommt als die erstere (fördernde). — 6) Der durch **NF** erreichbare maximale Opsoninindex bzw. Phagozytatwert war somit erstens ein bedeutend niedrigerer als der ceteris paribus durch **FK** zu erzielende, und zweitens war es auch unmöglich, den maximalen Opsoninindex bzw. Phagozytatwert durch Vergrößerung

seiner Gebrauchsdosis über denjenigen von **FK** zu stellen, denn trotz der Steigerung der Menge von **NF** von 0,5 ccm auf 1,0 ccm blieb der Opsoninindex fast derselbe (100:107), während dabei der Vermehrungskoeffizient für **FK** 100:136 betrug (Tab. V). — 7) Der Phagozytatwert verhielt sich ebenso wie der Opsoninindex. Die Vergrößerung der Gebrauchsdosen der Testmaterialien im Verhältnis von 100:200 verursachte die Zunahme des Phagozytatwertes von 100:156 bei **FK** und nur von 100:122 bei **NF**. Der Vermehrungskoeffizient des Phagozytats bei **NF** ist also ein kleinerer als der bei **FK**. — 8) Somit dürfte nachgewiesen sein, daß auch die **nativen** Filtrate der Kulturen von Pneumokokken (**NF**) eine gegen antigene bzw. immunogene Avidität antagonistisch wirkende Energie enthalten, die durch Erhitzung bei 100° C während etwa ½ Std. inaktiviert wird, so daß also die darin enthaltene antigene Avidität erst dann in vollem Maße ihre eigene Wirkung aufzuweisen imstande ist.

Nachdruck verboten.

Ueber den biologischen Unterschied zwischen nativem und gekochtem Antigen von Pneumokokken.

II. Mitteilung: Unterschied bei Erzeugung des Agglutinins im Blute.

[Aus dem chirurgischen Laboratorium der Kais. Universität zu Kyoto
(Prof. Dr. R. Torikata).]

Von **S. Yamamoto.**

Mit 2 Kurven im Text.

Die Sera von Kaninchen in unserer I. Mitteilung haben wir auch auf ihren Gehalt an Agglutininen gegenüber Pneumokokken geprüft, um zu sehen, ob sich auch dadurch der Unterschied zwischen nativem und gekochtem Filtrat der Pneumokokkenkultur feststellen läßt.

Versuch I.

Einfluß von **NF** (Nativkulturfiltrat) und **FK** (gekochtes Kulturfiltrat) in der Menge von 0,5 ccm auf die mittels Pneumokokkenvakzine herbeigeführte Erzeugung des homologen Agglutinins.

Die Ergebnisse der Versuche sind in Tabelle I (S. 382) zusammengestellt.

Versuch II.

Einfluß von **NF** und **FK** in der Menge von 1,0 ccm auf die mittels Pneumokokkenvakzine herbeigeführte Erzeugung des homologen Agglutinins.

Tabelle I.

Kan.-Nr.	Die Tiere erhielten 0,5 ccm Vakzine, vermischt mit 0,5 ccm von:	Agglutininintiter des Serums						
		Vor der Injek- tion	Nach der Injektion, und zwar am					
			5. Tag	10. Tag	15. Tag	20. Tag	25. Tag	30. Tag
20	NF	20	100	600	400	200	200	200
21	FK	10	200	800	600	600	400	200
22	Bouillon	20	200	800	400	200	100	100
24	NaCl-Lösung	20	100	400	200	100	100	100
25	NF	40	400	1000	600	400	400	200
26	FK	40	1200	1600	1000	600	400	400
27	Bouillon	40	400	800	200	200	200	100
28	NaCl-Lösung	40	400	800	200	400	200	200
Durch- schnitt	NF	30	250	300	500	300	300	200
	FK	25	700	1200	800	600	400	300
	Bouillon	30	300	800	400	200	150	100
	NaCl-Lösung	30	250	600	200	250	150	150

Die diesbezüglichen Versuchsergebnisse sind in Tab. II enthalten.

Tabelle II.

Kan.-Nr.	Die Tiere erhielten 0,5 ccm Vakzine, vermischt mit 1,0 ccm von	Agglutininintiter des Serums						
		Vor der Injek- tion	Nach der Injektion, und zwar am					
			5. Tag	10. Tag	15. Tag	20. Tag	25. Tag	30. Tag
30	NF	10	600	1200	800	800	600	400
31	FK	10	800	2000	1200	800	600	400
32	Bouillon	20	400	800	600	400	200	200
34	NaCl-Lösung	10	200	600	400	200	200	100
38	NF	10	400	1000	800	600	400	400
39	FK	10	1200	2500	1600	800	600	600
40	Bouillon	100	800	2500	600	200	200	200
41	NaCl-Lösung	100	400	1600	2500	600	200	200
Durch- schnitt	NF	10	500	1100	800	700	500	400
	FK	10	1000	2250	1400	300	600	500
	Bouillon	60	600	1650	600	300	200	200
	NaCl-Lösung	55	300	1100	1450	400	200	150

Betrachtung der Versuchsergebnisse.

Um die Befunde noch übersichtlicher zu gestalten, haben wir die in Tab. I und II angegebenen Zahlen in Fig. 1 und 2 in graphischen Darstellungen wiedergegeben.

Daraus geht folgendes hervor:

1) Der maximale Wert des Agglutinins, der durch 0,5 ccm der Testmaterialien am 10. Tage nach der Injektion herbeigeführt worden war, betrug durchschnittlich 1:600 bei NaCl-Lösung, 1:800 bei einfacher neutraler Bouillon, 1:800 bei NF und 1:1200 bei FK.

2) Der durchschnittliche Wert des durch 1,0 ccm der Testmaterialien am 10. Tage nach der Injektion ausgelösten Agglutinins, der dann in der Regel sein Maximum erreicht, wie dies aus den Tab. I und II ersichtlich ist, betrug 1:1100 bei NaCl-Lösung, 1:1650 bei einfacher neutraler Bouillon, 1:1100 bei NF und 1:2250 bei FK.

3) Mit der Erhöhung der Menge der Testmaterialien NF und FK ging die Steigerung des Agglutininwertes Hand in Hand. Dabei erwies sich der Vermehrungskoeffizient $1100:800 = \text{ca. } 1,4$ bei NF und $2250:1200 = \text{ca. } 1,87$ bei FK.

4) Das native Kulturfiltrat, NF, besaß also eine kleinere immunisatorische Avidität als das gekochte, FK.

5) Unsere Befunde stimmen mit den in der I. Mitteil. angegebenen Feststellungen beim Opsoninindex bzw. Phagozytat überein.

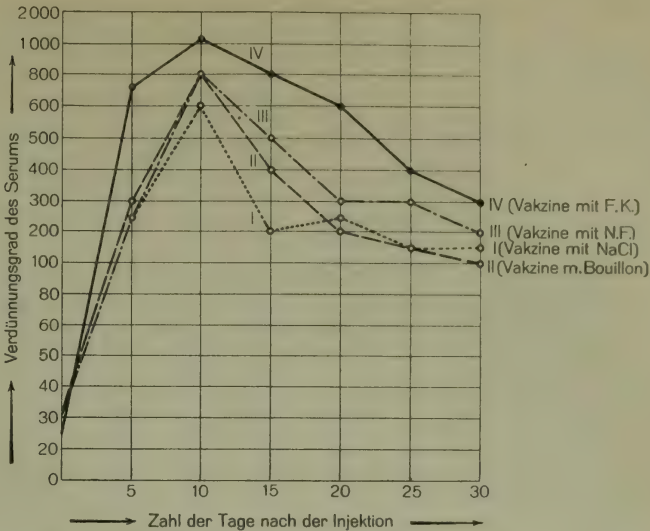


Fig. 1. Schwankung des Agglutinintiters im Blutserum des Kaninchens.

- I. ————— Vakzine mit NaCl-Lösung (0,5 ccm),
- II. - - - - - " " Bouillon (0,5 "),
- III. - . - . - " " NF (0,5 "),
- IV. ————— " " FK (0,5 ").

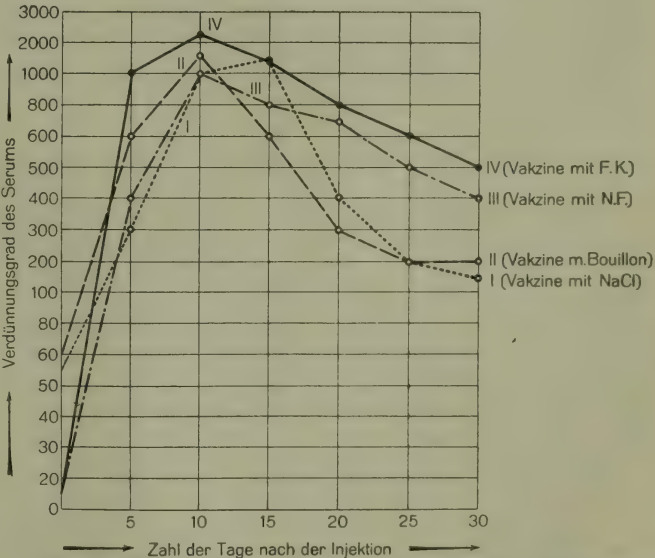


Fig. 2. Schwankung des Agglutinintiters im Blutserum des Kaninchens.

- I. ————— Vakzine mit NaCl-Lösung (1,0 ccm),
- II. - - - - - " " Bouillon (1,0 "),
- III. - . - . - " " NF (1,0 "),
- IV. ————— " " FK (1,0 ").

Nachdruck verboten.

Die Enterokokken.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Heidelberg
(Direktor: Prof. Dr. E. Gotschlich).)

Von Priv.-Doz. Dr. med. et phil. **M. Gundel.**

Während in der ausländischen (besonders in der französischen) Literatur die „Enterokokken“ verschiedentlich als Krankheitserreger beschrieben wurden, ist dieses Bakterium in der deutschen recht unbeachtet geblieben. Erst in den letzten 3—4 Jahren ist die Aufmerksamkeit der deutschen Forscher durch das Verdienst von H. Schmitz (1, 2) auf diesen Mikroben gelenkt worden. Die Enterokokken sind dann auch ziemlich gleichzeitig von einigen Autoren [H. Schmitz, (2) K. Meyer, (4) M. Gundel, (3)] als Erreger verschiedener Erkrankungen diagnostiziert worden. Die Ansichten über die pathogene Bedeutung dieser Keime gehen jedoch ziemlich auseinander [siehe z. B. auch Went, (6)]. Es finden sich viele Unklarheiten, die uns veranlaßten, das Problem als ganzes einer Bearbeitung zu unterziehen.

Aufgabe dieser Arbeit soll sein, kurz die Bakteriologie des Mikroben auf Grund der bisher vorliegenden Untersuchungen, sowie seine Bedeutung für die Klinik zur Darstellung zu bringen. Es kann hierbei nicht unterbleiben, die Streptokokkenfrage, besonders die verwandtschaftlichen Beziehungen mit den Viridans-Streptokokken, den Pneumokokken und den Milchsäurestreptokokken, zu streifen, da es sich nach meiner Ansicht bei dem Enterokokkus um eine bedingt menschenpathogene Variante des Milchsäurestreptokokkus handelt. Ueber die Nomenklatur wird am Ende der Arbeit einiges gesagt werden müssen.

I. Morphologisches und biologisches Verhalten der Enterokokken.

Bei der Mehrzahl der frischgezüchteten Stämme bietet sich das Bild eines grampositiven Diplococcus von Kerzenflammenform, daneben sieht man oft runde Formen, neben ausgesprochenen „Diplo-lanzettkokken“ kürzere oder auch längere Ketten aus runden und Lanzettformen. Es muß diese große Vielgestaltigkeit hervorgehoben werden, da u. E. morphologisch eine Unterscheidung dieser „Enterokokken“ von den „Milchsäurestreptokokken“ unmöglich ist. Leicht sind sie aber von allen anderen Streptokokkentypen, besonders den „Viridans-Streptokokken“, zu differenzieren, da es sich bei diesen um ausgesprochene Ketten handelt, deren einzelne Glieder immer Kugeln sind, die je nach dem Typ eine verschiedene Größe aufweisen können. Am schwersten und u. E. sehr oft unmöglich ist die Trennung von den Pneumokokken auf Grund des morphologischen Bildes. Es spricht gegen die Arteinheit dieser beiden Typen morphologisch allein das Fehlen von Kapseln bei den Enterokokken. In einem Fall glaube ich, auch bei Enterokokken Kapseln im Tierkörper beobachtet zu haben (Gundel, 3), jedoch ist es auf jeden Fall außerordentlich selten. K. Meyer (4) hat z. B. an seinem großen Material niemals Kapselbildung beobachten können.

Aus dem Gesagten geht hervor, daß rein morphologisch eine Trennung der Enterokokken nur von den echten Streptokokken, einschließlich des Erregers der Endocarditis lenta, möglich ist. Völlig unmöglich ist dagegen die Ab-

trennung von den Milchsäurestreptokokken und Pneumokokken (abgesehen von dem Kapselbildungsvermögen der letzteren im Tierkörper).

Eine etwas ausführlichere Darstellung über die Biologie der Enterokokken läßt sich nicht umgehen, vor allem aus dem Grunde, weil der Ansicht von Schottmüller und seiner Schule über die pathogene Rolle der „grün wachsenden“ Streptokokken entgegen getreten werden muß.

Das Wachstum auf Blutagar: Nach K. Meyer (4) wächst der *Enterococcus* auf diesem Substrat in meist zarten, schwarzgrünen Kolonien, die sich nicht mit Sicherheit von denen der Pneumokokken unterscheiden lassen. Nach meinen Erfahrungen (3) wachsen die Enterokokken in etwa 60 Proz. der Fälle als kleine bis mittelgroße, schwärzliche Kolonien mit weißlichem Zentrum unter wechselnd starker Vergrünung des Substrats. Nicht selten wachsen sie auch als weißliche, staphylokokkenartige Kolonien, die durch einen mehr oder minder breiten, schwärzlichen Saum ausgezeichnet sind. Nach der neueren Arbeit von Hertha Schönfeld (5), einer Mitarbeiterin von K. Meyer, werden meine Befunde bestätigt (siehe Tabelle I, Schönfeld, 5). Die Zahl der nur „grünlich“ wachsenden Stämme ist doch im Vergleich zur Gesamtzahl der untersuchten recht gering. Ich zähle bei H. Schönfeld 12 unter 60 genau aufgeführten Stämmen, was auch meinen Erfahrungen entspricht. Die meisten anderen Stämme sind als „grau“ wachsend bezeichnet. Eine Abtrennung durch sein Wachstum auf Blutagar gegenüber den Pneumokokken ist in manchen Fällen wohl durchzuführen, in den allermeisten jedoch mit Sicherheit nicht. Gerade die wechselnde Art des Wachstums auf Blutagar in Uebereinstimmung mit den echten, aus Milch gezüchteten Milchsäurestreptokokken kann zur Stütze meiner Annahme herangezogen werden, daß die Enterokokken nur eine gelegentlich menschenpathogene Variante der Milchsäurestreptokokken sind. Wie bei diesen könnten verschiedene Typen unterschieden werden. Entsprechende Untersuchungen sind in Angriff genommen. Auch eine sichere Differenzierung gegenüber den echten *Viridans*-Streptokokken erscheint ausgeschlossen, wenn man nur das Wachstum dieser Keime auf Blutagar berücksichtigen will.

Wird aber das Verhalten der Enterokokken auf anderen Nährböden hinzugezogen, dann gelingt es m. E. leicht, diesen Mikroben von den Pneumokokken zu trennen. In der gewöhnlichen Bouillon wachsen die Enterokokken unter recht starker, die Pneumokokken dagegen nur unter sehr geringer Trübung des Substrats. Auf den verschiedensten festen Nährböden ohne Blutzusatz wachsen die Enterokokken zu einem großen Teil, entsprechend ihrer relativen Anspruchslosigkeit, erheblich üppiger als die kaum oder nur sehr zart wachsenden Pneumokokken oder gar als der *Streptococcus viridans*. In Uebereinstimmung mit Went (6) kann ich die Angabe Meyers nicht bestätigen, daß die Enterokokken auf den gewöhnlichen festen Nährboden in der Erstkultur nur schwer züchtbar wären. Im Gegenteil konnte ich immer wieder beobachten, daß die Enterokokken genau so wie die Milchsäurestreptokokken von Beginn an sehr gut gedeihen. Auch in meinen neuen Versuchen ließ sich diese Beobachtung bestätigen ¹⁾.

Bevor ich auf die pathogene Wirkung der Enterokokken unseren gebräuchlichsten Versuchstieren gegenüber eingehe, muß noch ihr Verhalten in einigen, differentialdiagnostisch wichtigen Substraten behandelt werden. Von den Pneumokokken sind sie abzutrennen durch ihre Galleunlöslichkeit und Optochinunempfindlichkeit. Wenn in der neuesten Auflage des bekannten Lehrbuches

1) Als sehr brauchbares Nährsubstrat zur Differentialdiagnose bewährte sich mir eine „Gallemilchzuckerlackmusbouillon“, über die näheres in einer späteren Arbeit mitgeteilt wird.

der „Bakteriologischen Diagnostik“ von Lehmann-Neumann von der Optochinempfindlichkeit der Enterokokken gesprochen wird (S. 230), dann dürfte es sich wohl um einen Irrtum handeln, da wir in Uebereinstimmung mit K. Meyer und Went unter bisher etwa 70 Stämmen in keinem Fall andere als optochinunempfindliche Enterokokken beobachten konnten. Man sieht, daß durch diese anerkannten Methoden eine einwandfreie Differenzierung von Enterokokken und Milchsäurestreptokokken gegenüber den Pneumokokken ermöglicht wird. Es steht uns aber keine Methode zur Verfügung, die eine Trennung der Enterokokken mit Sicherheit von den Milchsäurestreptokokken gestattet. Gegenüber dem *Streptococcus viridans* ist u. E., in Uebereinstimmung mit K. Meyer, eine Unterscheidung leicht. Die Gründe, die für eine scharfe Trennung dieser beiden Arten sprechen, werden bei der Besprechung der durch die Enterokokken bedingten Krankheitsbilder im einzelnen dargelegt werden. Ueber das Verhalten in anderen Nährsubstraten sind für die verschiedenen Bakterienarten einwandfreie Unterschiede noch nicht erbracht. Vor allem über die Viridans-Streptokokken herrschen noch viele Unklarheiten, da auch in den Hand- und Lehrbüchern kaum nähere Angaben zu finden sind. Das Verhalten den verschiedenen Zuckern gegenüber, in der Milch, der Lackmusmilch, insbesondere bezüglich das Säuerungsvermögen der Keime, muß noch weiter geprüft werden.

Ueber die Pathogenität der Enterokokken für unsere gebräuchlichsten Laboratoriumstiere liegen in der deutschen Literatur und, soweit ich sehen kann, auch in der ausländischen keine Angaben vor. Ich habe begonnen, die bestehende Lücke durch eigene Untersuchungen auszufüllen. Unter 22 Stämmen, die ich früher bei der Untersuchung von 200 Urinen von Cystitis und Pyelitis fand, waren 7 Stämme für die weiße Maus hochvirulent (!) und 1 Stamm zeigte wechselnde Pathogenität. Alle anderen Stämme waren auch in den größten Mengen bei intraperitonealer Einverleibung apathogen. Hierbei sind Beziehungen zwischen dem morphologischen, kulturellen sowie biochemischen Verhalten und der Pathogenität nicht aufgefunden worden. Trotz des Vorkommens dieser auch für Mäuse hochpathogener Enterokokkenstämmen glaube ich doch, eine sehr enge Verwandtschaft mit den Milchsäurestreptokokken annehmen zu müssen, da ich in der Mundhöhle nicht selten vergrünende Kettenkokken züchten konnte, die ebenfalls pathogen waren, bei denen es sich aber auf Grund ihres sonstigen Verhaltens sicher nicht um Pneumokokken handelte (9). Eine genauere Untersuchung der Mundhöhlenflora zeigte gelegentlich alle Uebergänge von avirulenten, schwachvirulenten und hochpathogenen Kokken, die auf der Blutplatte „vergrünend“ wuchsen. Ich muß im Rahmen dieser Arbeit Abstand nehmen von einer Besprechung der verwandtschaftlichen Beziehungen zu den hämolytischen Streptokokken.

Damit komme ich zu der Frage: Welche Rolle spielen die Enterokokken innerhalb der Gruppe der Streptokokken? Hier stehen sich verschiedene Ansichten gegenüber. Auf der einen Seite Schottmüller und seine Schule, auf der anderen vor allem Kruse. Speziell die Enterokokken werden verschieden beurteilt von K. Meyer und seinen Mitarbeitern und dem Verfasser. Es würde weit über den Rahmen dieser Arbeit hinaus gehen, sollte eine Klärung der Frage der „vergrünenden Streptokokken“ versucht werden. Es muß jedoch der Standpunkt Schottmüllers abgelehnt werden, der sie sämtlich als Viridansstreptokokken bezeichnet. Ein Beispiel: Eichhoff (12) züchtete vergrünende Streptokokken aus der Galle, die wir nach seiner Beschreibung als Enterokokken ansprechen müssen, während er sie als Viridans diagnostiziert und einer Anregung Schottmüllers folgend das Krankheitsbild der Cholangitis lenta aufstellt. Schottmüller und seine Schule finden diese Keime im Magen,

im Darm usw. und auch sie werden als Viridans-Streptokokken bezeichnet. Wenn wir uns aber einerseits die eingangs geschilderte relative anspruchslosigkeit der Enterokokken, ihre leichte Züchtung usw., andererseits nur die Schwierigkeiten der Kultivierung der echten Viridans-Streptokokken, ihre vorsichtige Behandlung bei der Fortzüchtung vorstellen, dann sind wir sicher, daß es sich um verschiedene Bakteriengruppen handelt. Unter Viridansstreptokokken versteht der Kliniker im allgemeinen nur den Erreger der Endocarditis lenta, bei den „Rachenstreptokokken“ handelt es sich aber nicht um echte Viridans-Streptokokken, die für die Endocarditis lenta spezifisch sind. Diese vergrünend wachsenden, in jeder Mundhöhle in großen Mengen vorkommenden u. E. fälschlich als „Viridans-Streptokokken“ bezeichneten Keime sind offenbar identisch mit den Milchsäurestreptokokken. Kruse (8) hat sie als *Streptococcus lacticus* bezeichnet (vielfach findet man sie auch unter dem Namen *Streptococcus acidilactici*). Es dürfte jedoch richtiger sein, sie „Milchsäurestreptokokken“ zu nennen, da sie unter diesem Namen bei Milchwirtschaftlern und Tierärzten, für die sie von größerer Bedeutung sind, eingeführt sind.

Ich stehe nun auf dem Standpunkt, daß die Enterokokken eine gelegentlich menschenpathogene Variante dieser Milchsäurestreptokokken sind (3). Wir müssen uns in Gegensatz zu K. Meyer und seinen Mitarbeitern stellen, die als einzige außer uns eingehendere Untersuchungen über die Frage angestellt haben. Abgesehen von dem Aeskulinspaltungsvermögen, das sie für die Enterokokken als konstant beschrieben und das für die Milchsäurestreptokokken (nur aus Milch gezüchtet) in 42,5 Proz. zutraf, haben sie keine einwandfreie Differenzierungsmethode angeben können. M. E. kann aber das verschiedene Verhalten zweier Bakterien einem Zucker gegenüber nicht für eine Trennung genügen. Wenn man sich vor Augen führt, wie verschieden das Wachstum der Enterokokken und auch der Milchsäurestreptokokken in ihren verschiedenen Typen ist, welche Rolle des weiteren Standortverhältnisse spielen, dann kann eine scharfe Trennung nicht anerkannt werden. Je nach ihrer Herkunft wachsen die Keime verschieden. Aus der Mundhöhle werden sie meistens als vergrünende, aus dem Darm mehr als weißliche staphylokokkenartige Kolonien gezüchtet.

Aus den Ausführungen soll hervorgehen, daß das Problem der Streptokokkengruppe unter besonderer Berücksichtigung der Entero-, Milchsäure- und Viridans-Streptokokken, ja sogar mit Einschluß der benachbarten Pneumokokkengruppe noch weit von einer Klärung entfernt ist. Wohl sind die verschiedenen Bakterienarten in ihrem Verhalten einer großen Reihe von Zuckern gegenüber, in den verschiedensten Nährsubstraten usw. von vielen Forschern untersucht worden, dabei ist aber zum mindesten für eine Reihe dieser Arten eine kritische Prüfung der krankmachenden Wirkung auf den Menschen unterblieben. Wie vereinbart sich z. B. das regelmäßige Vorkommen von „Viridans-Streptokokken“ in der Mundhöhle Gesunder mit dem so seltenen Auftreten der tödlichen Endocarditis lenta, wenn der Erreger dieser Erkrankung mit dem Saprophyten der Mundhöhle identisch wäre? Wie erklärt sich das häufige Vorkommen des „pathogenen Enterococcus“ im normalen Magen und Darm? Welche Rolle spielt der *Enterococcus* in der Gallenblase, im uropoëtischen System? Ist er ein Parasit oder wie z. B. Went (6) annimmt ein Saprophyt oder ein Epiphyt?

In den folgenden Ausführungen soll eine Schilderung der pathogenetischen Rolle der Enterokokken versucht werden, soweit sie bereits nach der Literatur und nach eigenen Untersuchungen möglich ist.

II. Ueber die pathogene Bedeutung der Enterokokken.

A. Das Vorkommen in der Mundhöhle:

Die m. E. sehr schwer zu lösende Frage ist die, ob die „Enterokokken“ in der Mundhöhle überhaupt vorkommen, wenn wir sie nach K. Meyer von den Milchsäurestreptokokken trennen müßten. Bei bakteriologischen Untersuchungen von Mund- oder Tonsillenabstrichen fällt die überwältigende Fülle von grünwachsenden Kokken auf. Etwas seltener sind die Fälle, wo andere Typen dieser Milchsäurestreptokokken gezüchtet werden. Ich habe von 159 Personen Hals- und Mundabstriche untersucht, sowohl von Gesunden (95) als auch von Kranken (22) und hierbei nur in 12 Fällen Pneumokokken gefunden. Alle anderen gezüchteten Stämme waren für die weiße Maus apathogen und besaßen auch sonst alle Charakteristika von Milchsäurestreptokokken. Das im allgemeinen auch heute noch angenommene Vorkommen von Pneumokokken in fast jeder Mundhöhle muß abgelehnt werden; man hat früher den Begriff der Pneumokokken offenbar zu weit gefaßt und ihn auf alle lanzettförmigen Bakterien ausgedehnt. Daß jedoch verwandtschaftliche Beziehungen zwischen diesen normalen Bewohnern der menschlichen Mundhöhle und den Pneumokokken bestehen, darf nicht — in völliger Uebereinstimmung mit Kruse — von der Hand gewiesen werden, fand ich doch bei Tierversuchen an der weißen Maus in 6 Fällen unter Mitberücksichtigung kultureller Methoden Virulenzschwankungen der gezüchteten Stämme, die für das Vorkommen fließender Uebergänge von saprophytischen zu pathogenen Keimen dieser Bakteriengruppe sprechen. In Uebereinstimmung mit Went (6) halten wir die grünwachsenden ebenso wie die gelegentlich anders wachsenden Lanzettkokken der Mundhöhle (wobei ich natürlich von den echten Pneumokokken absehe) für Saprophyten. Daß sie auch unter besonderen Umständen pathogen werden können, dürfte anzunehmen sein (siehe oben). Ich glaube jedoch, daß dieses seltener ist, als es vor allem von den Zahnärzten angenommen wird. Weber und Pesch (10) fanden kürzlich 119 Granulome bakteriell infiziert und beobachteten in 100 Proz. Bakterien der Strepto-, Pneumo-, Enterokokkengruppe. Sie glauben, „daß diese im allgemeinen nicht sehr infektiöntüchtigen Mikroorganismen in Uebereinstimmung mit klinischem und histologischem Befund aus dem avirulenten grünwachsenden Zustand in die virulente hämolysierende Form übergehen und damit zweifelsohne zum Ausgangspunkt einer Erkrankung, einer Sepsis werden können“. Ich kann dieser Schlußfolgerung um so weniger entraten, als ich bereits vor 3 Jahren eine ähnliche Vermutung betreffs des Uebergangs in die virulente Form der Pneumokokken aussprach. Die Milchsäurestreptokokken in ihrer überwältigenden Fülle, die wir aus jeder Mundhöhle züchten, müssen aber in dieser Form als Saprophyten angesprochen werden. Darum möchte ich sie auch nicht als Enterokokken bezeichnen, obwohl sie von diesen nicht zu trennen sind.

B. Das Vorkommen der Enterokokken im Magen-Darmtraktus und ihre pathogene Rolle.

Gerade die Magen- und Darmflora ist in den letzten 5 Jahren von vielen Untersuchern (Internisten, Chirurgen, Pädiatern) zur Beantwortung sowohl allgemein-klinischer als auch Fragen über die Bakteriologie von Ulcus- und Karzinommägen durchforscht worden. Man kann sich leider des Eindrucks nicht erwehren, daß scheinbar der Höhepunkt einer Verwirrung, vor allem über die Nomenklatur der Keime und ihre pathogene Bedeutung erreicht ist. Es soll und kann hier nicht der Ort sein, auf die einander widersprechenden Ergebnisse des näheren einzugehen. Nur einige Beispiele seien mir gestattet:

Viele Autoren finden im perforierten Magen, im Peritonealexsudat „Streptokokken“ und wundern sich, daß die Patienten diese Infektion überleben. Andere finden sehr häufig „*Streptococcus viridans*“, um ganz von „Staphylokokken“ und anderen Keimen zu schweigen. Van der Reis und W. Löhr (11, 13) haben das Verdienst, mit einwandfreier bakteriologischer Diagnostik manche Fragen geklärt zu haben, obwohl sie in erster Linie internistische bzw. chirurgische Fragestellungen behandelten. Wenn auch die Bakteriologen ihnen nicht in allen Punkten folgen können, so sind diese doch nur von untergeordneter Bedeutung. Nach beiden Autoren kommen „Milchsäurestreptokokken“ in den verschiedensten Abschnitten des Magen-Darmkanals sehr oft vor. Da uns alle anderen hier vorkommenden Keime nicht interessieren, sei nur das folgende gesagt: den gesunden Magen findet man meist steril, im oberen Dünndarm (ingestafrei) nur eine monotone Flora mit Ueberwiegen von Diplolanzettkokken, die sehr oft vergrünend wachsen. Bei den verschiedensten chirurgischen Krankheitsbildern ergibt sich nach W. Löhr (11, 13) das folgende Bild:

Ulcus ventriculi:	56 Fälle: davon steril im Magen und Duodenum	15 = (27 Proz.)
	„harmlose Dünndarmflora“	34 = (60 Proz.)
	Dickdarmflora oder Staphylokokken	7 = (13 Proz.)
„Milchsäurestreptokokken“ fanden sich in 11 Fällen im Magen und Duodenum (4mal im Ulcusboden).		
Ulcus duodeni:	40 Fälle: davon steril	26 Fälle
	davon „normale apathogene Dünndarmflora“	12 „
	davon Dickdarmflora	2 „
„Milchsäurestreptokokken“ wurden in 5 Fällen nachgewiesen.		
Magenkarzinom:	44 Fälle: davon steril	8 Fälle
	„apathogene Dünndarmflora“	6 „
	Dickdarmflora	30 „
Flora des Duodenum bei Magenkarzinom:	44 Fälle: davon steril	5 Fälle
	Dünndarmflora	9 „
	Dickdarmflora	30 „

Es kann hier nicht der Ort sein, auf diese, speziell den Chirurgen im Hinblick auf die Peritonitits sehr interessierenden Fragen im einzelnen einzugehen, doch scheinen die Befunde von W. Löhr für das Fehlen pathogener Eigenschaften der Milchsäurestreptokokken zu sprechen. Trotzdem Went im Stuhl bei gewissen Erkrankungen (z. B. Colitisfällen) oft mehr Enterokokken fand als Coli-Bazillen, glaubt er doch, daß die Enterokokken bei Dickdarmaffektionen — und diese berücksichtigt er nur bei seinen Untersuchungen — keine pathogene Rolle spielen, eine Annahme, deren Berechtigung wir uns auch nach eigenen Untersuchungen nicht verschließen können.

Fräglich erscheint u. E. nur die Rolle der Enterokokken im Magen und den oberen Dünndarmabschnitten zu sein. Sie in allen Fällen der apathogenen Dünndarmflora zuzurechnen, wie es vor allem W. Löhr in Anlehnung v. d. Reis tut, erscheint uns vorläufig noch nicht genügend gestützt. In eigenen Versuchen, zum Teil gemeinsam mit Herrn Dr. Seeber (Med. Klinik, Heidelberg), soll dieser Frage weiter nachgegangen werden. Diese Keime, als Viridans-Streptokokken zu bezeichnen, halte ich für unrichtig. Der Begriff „Viridans-Streptokokken“, von Klinikern geprägt, muß dem Erreger der Endocarditis vorbehalten bleiben. Immerhin bleibt aber zu prüfen, welche Beziehungen zwischen beiden Bakteriengruppen vorliegen. Ich behalte mir entsprechende, zum Teil schon in Angriff genommene Untersuchungen vor. Rein theoretisch halte ich es für ausgeschlossen, daß der echte *Viridansstreptococcus* bei den niedrigen pH -Werten des normalen Magens oder Duodenums lebensfähig ist. Entsprechende Untersuchungen stehen noch aus. Was die Nomenklatur dieser aus den Darmabschnitten gezüchteten Diplolanzettkokken anbetrifft, halten wir die Bezeichnung „Enterokokken“ für richtig, da die Keime unter

diesem Namen international eingeführt sind. Hierbei — und das darf ausdrücklich betont werden — ist die Frage, ob sie mit den Milchsäurestreptokokken identisch sind, von sekundärer Bedeutung. Zuvor scheinen Untersuchungen wichtiger zu sein, die zu prüfen haben, ob die Enterokokken im Magen und Darm überhaupt sein können.

C. Das Vorkommen in der Gallenblase.

Von Schotttmüller ist der Begriff der Cholangitis lenta geprägt worden (Eichhoff, 12), da auch in der Galle „grünwachsende Streptokokken“ nachgewiesen werden konnten, bei denen es sich nach den Literaturangaben aber sicherlich um Enterokokken handelt. Trotz der in den letzten Jahren gehäuften Arbeiten über die Bakteriologie der Galleninfektionen sind hier noch große Lücken, die nur durch enge Zusammenarbeit von Klinikern und Bakteriologen geschlossen werden können. Es sind dies einmal die Beziehungen, die zwischen den gezüchteten Bakterien und dem Krankheitsbild bestehen, und 2. die Rolle der „Streptokokken“-Befunde. K. Meyer (4) hat das Verdienst, die letzte Frage zu einem gewissen Abschluß gebracht zu haben, indem er feststellte, daß bei den Untersuchungen von 130 Gallenflüssigkeiten in 34 Fällen Enterokokken gefunden wurden (in 41,5 Proz. aller positiven Befunde). Er spricht den Enterokokken eine Hauptrolle bei den Galleninfektionen (neben dem Coli-Bazillus) zu. Die am wichtigsten erscheinende Frage nach der Bedeutung dieser Keime für bestimmte Erkrankungen der Gallenwege ist jedoch noch völlig offen. Auch Friesleben (14) fand die Enterokokken nicht selten und spricht ihnen eine pathogene Rolle zu. Er betont die Bedeutung der enterogenen Infektion nach vorausgehenden Magendarmstörungen. Im Hinblick auf die früheren Beobachtungen vom Ueberwiegen der Coli-Bazillen und Staphylokokken und dem fast völligen Zurücktreten der „Streptokokken“ gewinnen diese Befunde an Bedeutung. Sie sprechen dafür, daß die Diplolanzettkokken des Darmes zum mindesten fakultative Parasiten sind, wenn ihre Herkunft enterogen und nicht hämatogen bedingt wäre. In gemeinsamen Untersuchungen mit Herrn Dr. Seeber, die bereits verschiedene positive Befunde gezeitigt haben, soll versucht werden, diese Frage näher zu verfolgen.

D. Die Bedeutung der Enterokokken bei Erkrankungen des uropoëtischen Systems.

Unter besonderer Berücksichtigung des klinischen Bildes habe ich die Bedeutung der Enterokokken bei Erkrankungen der Blase und des Nierenbeckens untersucht. Es sind hierbei eine Reihe neuer Gesichtspunkte aufgedeckt worden, die an größerem Material in Zusammenarbeit vor allem mit Pädiatern auf ihre Richtigkeit weiter verfolgt werden müssen. Bei der Untersuchung von 200 Urinen wurden in 22 Fällen Enterokokken gezüchtet. Bei einem Teil dieser Kranken konnten nun besonders interessante Beziehungen zwischen vorausgegangener Angina, Bronchopneumonie bzw. katarrhalischen Erkrankungen und der nachfolgenden Cystitis oder Pyelitis nachgewiesen werden. Man war bei diesen Fällen zu der Annahme gezwungen, daß die Infektion des uropoëtischen Systems zurückzuführen war auf die vorausgegangenen Erkrankungen der Atmungswege. Man mußte danach an eine hämatogene Infektion denken, die auch von vielen Forschern für das Zustandekommen der Coli-Infektionen der Harnwege angenommen wird. In einem hohen Prozentsatz der gezüchteten Enterokokkenstämme zeigten die Tierversuche eine große Virulenz für die weiße Maus. In 4 Fällen von Bronchopneumonie bei Kindern konnte ich bis jetzt die Urine untersuchen und in 3 Fällen (2mal in Reinkultur) Enterokokken nachweisen, ohne daß Krankheitserscheinungen seitens der Blase

oder des Nierenbeckens vorlagen. Man wird das Zusammentreffen der Krankheitsprozesse im Respirationstraktus mit denen der Blase oder des Nierenbeckens — da sie sehr auffällig sind — kaum als Zufälligkeiten erklären können. Die Erregernatur der Enterokokken bei einzelnen Erkrankungen der Harnwege steht m. E. außer jedem Zweifel, trotzdem Went (6) dies ablehnt im Gegensatz zu meinen Befunden und denen von K. Meyer (4). Ich verfüge leider bisher nur über einen Fall, wo durch die Behandlung mit Autovakzine eine Heilung erzielt werden konnte, da in allen anderen Fällen keine Vakzine gewünscht wurde. Auch hier erscheinen uns neue Untersuchungen an großem Material unter Mitarbeit der Kliniker wichtig.

Schlußfolgerungen.

Durch die vorstehenden Ausführungen dürfte gezeigt worden sein, daß die Stellung der Enterokokken im System der Streptokokken noch nicht genügend geklärt ist. Wir kommen zu dem Schluß, daß die Enterokokken mit den Milchsäurestreptokokken identisch sind. Die geringen Unterschiede im kulturellen und biologischen Verhalten könnten durch Standortsunterschiede unschwer erklärt werden. Ihre biochemische Leistungsfähigkeit ist ziemlich gleich im Gegensatz z. B. zu den Pneumokokken und dem *Streptococcus pyogenes* und *viridans*. Um ein einwandfreies Bild von der Erregernatur der Enterokokken zu erhalten, müssen noch weitere Untersuchungen abgewartet werden. Fraglich erscheint sie in der Mundhöhle und im Darmtraktus zu sein, während sie für die Galleinfektionen und für das uropoëtische System kaum abgelehnt werden kann. Auch Untersuchungen über die durch sie bedingten Krankheitsbilder von Klinikern stehen noch aus. Tierversuche an der weißen Maus wie auch ihr sonstiges biologisches Verhalten lassen den Schluß als berechtigt erscheinen, daß es sich bei den Enterokokken um fakultative Parasiten handelt. Auf Grund dieser Anschauung dürfte es auch zweckmäßig sein, sie — soweit sie im Darm, in der Galle, in den Harnwegen oder im Blut (um nur die Hauptfundorte zu nennen) nachgewiesen werden — von den Milchsäurestreptokokken zu trennen. Wenn auch diese normalen Bewohner der Mundhöhle wahrscheinlich (wenn auch wohl nur selten) in pathogene Formen übergehen können und folgerichtig als Enterokokken bezeichnet werden müßten, so spricht hiergegen doch ihre weit ausgeprägte Ubiquität.

Mit Nachdruck wird die Forderung gestellt, die Enterokokken mit ihrer charakteristischen Vielgestaltigkeit zu trennen von den Viridans-Streptokokken. Die vergrünend wachsenden „Streptokokken“, die in der Mehrzahl der Fälle als Saprophyten von verschiedenen Schleimhäuten gezüchtet werden können, sind Milchsäurestreptokokken oder in Anlehnung an die ausländische Literatur Enterokokken (*Streptococcus ovalis* Escherich). Sie sind morphologisch und biologisch unschwer voneinander zu trennen. Die Viridans-Streptokokken (als morphologisch zarte Kugelketten) sind dagegen die Erreger der Endocarditis lenta und als solche wohlcharakterisierte Mikroorganismen.

Es erscheint nicht ausgeschlossen, daß durch eine erneute Aufrollung der Enterokokkenfrage unter besonderer Berücksichtigung experimenteller mikro-

biologischer und klinischer Untersuchungen das Streptokokkenproblem einer seit langem erstrebten Klärung entgegengeführt werden kann.

Literatur.

- 1) Schmitz, H., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 96. 1925. — 2) Ders., Ebenda. Bd. 98. 1926. — 3) Gundel, M., Ebenda. Bd. 99. 1926. — 4) Meyer, K., Klin. Wochenschr. 3. Jahrg. Nr. 50. — 5) Schönfeld, H., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 99. 1926. — 6) Went, St., Ebenda. Bd. 100. 1926. — 7) Meyer, K. u. Schönfeld, H., Ebenda. Bd. 99. 1926. — 8) Kruse, W., Ebenda. Bd. 34. 1903. — 9) Gundel, M., Ebenda. Bd. 95. 1925. — 10) Weber, R. u. Pesch, K. L., Dtsch. Monatsschr. f. Zahnheilk. Heft 20. 1927. — 11) Bitter, L. u. Löhr, W., Arch. f. klin. Chir. Bd. 139. 1926. — 12) Eichhoff, Mitt. a. d. Grenzgeb. d. Med. u. Chir. Bd. 35. 1922. — 13) Löhr, W., Arch. f. klin. Chir. Bd. 143. 1926. — 14) Friesleben, Münch. med. Wochenschr. 1928. Nr. 2.

Nachdruck verboten.

Ueber die Notwendigkeit einer einheitlichen Methode zum Nachweis hämolytischer Streptokokken (Scharlachstreptokokken).

[Aus der Bakteriologischen Abteilung — Serologisches Laboratorium — des Reichsgesundheitsamtes.]

Von **H. Dold** und **H.-R. Müller**.

In den letzten Jahren haben die hämolytischen Streptokokken allgemein ein erhöhtes Interesse gefunden, und seit den neueren Arbeiten von Dick, Dochez, Zingher u. a. über die Aetiologie des Scharlach stehen sie wieder im Mittelpunkt der Forschung. Hämolytische Streptokokken sollen nach der Ansicht vieler Autoren (Loeffler, Babes, Bergé, Gabritschewsky, Moser, Dick, Dochez u. a.) die Erreger des Scharlach sein, und nach der Meinung anderer (Friedemann und Deicher) zum mindesten unerlässlich sein für die Entstehung dieser Krankheit. Auch soll nach der Auffassung der letztgenannten Autoren das Fehlen oder Vorhandensein solcher hämolytischer Streptokokken bei Scharlachrekonvaleszenten gleichbedeutend sein mit dem Fehlen oder Vorhandensein einer weiteren Infektionsgefahr. Der preußische Landesgesundheitsrat hat in seiner Sitzung am 9. Nov. 1927 empfohlen, „daß die zuständigen Stellen angewiesen werden sollen, Erfahrungen darüber zu sammeln, ob die Aufhebung der Absonderung der Genesenen von dem Ausfall der bakteriologischen Untersuchung des Rachenabstriches auf hämolytische Streptokokken abhängig zu machen ist.“

Bei dieser Sachlage erscheint es dringend nötig, die Methoden des Nachweises hämolytischer Bakterien und speziell hämolytischer Streptokokken einer kritischen Betrachtung zu unterziehen.

Es sei zunächst festgestellt, daß eine einheitliche Methode des Nachweises der Hämolyse von Bakterien und im besonderen von Streptokokken nicht existiert. Die Feststellung der Hämolyse durch Bakterien erfolgt teils in flüssigen Kulturen, teils auf festen Nährböden. Es bedarf keiner besonderen Begründung, daß zur völligen Sicherstellung des Befundes die Anwendung sowohl der festen als auch der flüssigen Kultur gehört.

Am gebräuchlichsten ist die Diagnosenstellung mittels der festen Kultur (Blutagarplatte), weswegen wir unsere Ausführungen auf diese Art des Hämolyse-

nachweises beschränken wollen. Wie ein Blick in ein Lehrbuch der Bakteriologie zeigt, ist die Zahl der von verschiedenen Autoren empfohlenen festen Nährböden zum Nachweis der Hämolyse von Bakterien (Blutagarplatten) nicht gering. Wir können hier darauf verzichten, diese Methoden im einzelnen aufzuführen. Es dürfte genügen, festzustellen, daß die Unterschiede dieser Verfahren in der Hauptsache bestehen 1) in der verschiedenen Blutart, 2) in der verschiedenen Blutkonzentration, und 3) in der verschiedenen Vorbehandlung des zur Platte verarbeiteten Blutes.

Wenn man die Literatur über die Hämolyse von Bakterien und speziell auch die Arbeiten, welche über hämolytische Streptokokken als vermutliche Scharlacherreger berichten, durchsieht, so zeigt sich, daß die Autoren teils gar keine Angaben über die verwendete Methode gemacht haben, teils mit verschiedenen Methoden gearbeitet haben. Diese Feststellung wäre ohne Bedeutung, wenn die anscheinend allgemein verbreitete Ansicht, daß die Wahl der Methode ohne Einfluß auf den Ausfall der Reaktion ist, zutreffen würde. Diese Ansicht jedoch ist irrig, wie aus unseren Versuchen hervorgeht.

Da, wie oben bemerkt, die verschiedenen Methoden des Hämolsenachweises sich hauptsächlich durch die verschiedene Blutart, die verschiedene Blutkonzentration und die verschiedene Vorbehandlung des Blutes voneinander unterscheiden, haben wir die Frage zu beantworten gesucht, ob die hämolytische Reaktion eine Abhängigkeit von diesen 3 Faktoren (Blutagar, Blutkonzentration und Blutvorbehandlung) aufweist.

1) Die Abhängigkeit der Hämolyse von der Blutart.

Als Blutart für den Hämolsenachweis sind in erster Linie empfohlen und gebräuchlich Menschenblut, Kaninchenblut, Hammelblut und Pferdeblut. Wir haben deswegen diese Blutarten gewählt, um die Frage des Einflusses der Blutsorte auf die hämolytische Reaktion zu prüfen. Untersucht wurden von uns 20 verschiedene, vorwiegend hämolytische Streptokokkenstämme, wobei das

1. Abhängigkeit der Hämolyse von der Blutart.

Versuch Nr.	Strepto- kokken- stamm	Ergebnis der Hämolysinprobe (Ableseung nach 48 Stunden; 5% Blutagar)			
		Menschenblut	Kaninchenblut	Hammelblut	Pferdeblut
1	89	—	—	—	—
2	138	—	—	—	—
3	M 1	—	—	±	—
4	Aronson	±	+	++	++ (I)
5	41	±	±	++	++ (I)
6	21	+	—	++++	++ (I)
7	165	+	±	++	+
8	194	++	+	++	++++
9	66	++	+	++	++++
10	23	±	±	+++	+++ (I)
11	96	+	+	+++	+++ (I)
12	42	++	+	++	++++
13	117	++	+	+++	++++
14	145	++	+	+++	+++++
15	185	++	+	+++	++++
16	157	++	++	+++	+++++
17	167	++	++	+++	++++
18	22	++	+	++++	+++++
19	166	++	+	++++	++ (I)
20	13	+++	+	++++	+++++

Streptokokkenmaterial von jedem Stamm in möglichst gleicher Menge auf die 4 verschiedenen Blutagararten (Menschen-, Kaninchen-, Hammel-, Pferdeblutagar), welche die gleiche Blutkonzentration (5 Proz.) hatten, ausgestrichen wurde. Die Ablesung erfolgte nach 24 und 48 Std. Brutschranktemperatur (37° C) und weiteren 48 Std. Zimmertemperatur. In der Tabelle I ist das Ergebnis dieser Versuchsreihe, und zwar die 48stünd. Ablesung, die sich im allgemeinen mit der 24stünd. und 96stünd. deckte, wiedergegeben (Tab. 1, S. 393).

1a. Abhängigkeit der Hämolyse von der Blutart.

Versuch Nr.	Streptokokkenstamm	Ergebnis der Hämolyseprobe (Ablesung nach 48 Stunden; 5% Schüttelblutagar)		
		Menschenblut	Kaninchenblut	Hammelblut
1	89 (V. K. P.)	—	—	—
2	Seeger	—	—	—
3	Elb I	.	—	—
4	Elb II	.	—	—
5	As S I	.	—	—
6	72	.	—	—
7	Rä.	.	—	±
8	Aronson (VII. P.)	—	±	+
9	167 (VI. K. P.)	—	±	++ (!)
10	Krüger	.	+	+
11	13 (VII. K. P.)	±	+	++++ (!)
12	Kaufmann I	.	++	++++
13	42	—	±	+++ (!)
14	M 1	—	++	+++ (!)
15	41	.	+++	++
16	77	.	++	++++
17	74	±	++	++++ (!)
18	40	+	++	++++ (!)
19	Dochez	+	++++	++++ (!)
20	89 (X. M. P.)	.	+++	— (!)

Wie deutlich ersichtlich ist, besteht ein großer Unterschied in dem Grad der Hämolyse, den die untersuchten Streptokokkenstämme auf den 4 verschiedenen Blutagarsorten¹⁾ erzeugt haben. Die Hämolyse auf den Hammel- und Pferdeblutagarplatten war allgemein viel stärker als die auf den Menschenblut- und Kaninchenblutagarplatten. Im einzelnen treten die Unterschiede besonders scharf bei Vers. 4, 5, 6, 10, 11 und 19 hervor. Bei Versuch 6 haben wir den Fall, wo einer sehr starken Hämolyse auf Hammelblutagar (++++) ein Fehlen der Hämolyse (—) auf dem Kaninchenblutagar gegenübersteht, während die Reaktionen auf dem Pferdeblutagar (++) und auf dem Menschenblutagar (+) eine Mittelstellung einnehmen.

Wir haben diese Versuche des öfteren wiederholt, wobei wir hauptsächlich Vergleiche zwischen Hammelblut, Kaninchenblut und Menschenblut anstellten, und hatten stets gleichsinnige Ergebnisse, wofür Tabelle Ia ein weiterer Beleg sei.

Hier tritt die Ueberlegenheit der Hammelblutagarplatten über die Menschenblutagarplatte besonders deutlich in die Erscheinung. In den Versuchen Nr. 9, 11, 13, 14, 17, 18 und 19 sehen wir auf der Menschenblutplatte nur Andeutungen bzw. völliges Fehlen der Hämolyse (+ bis — Reaktionen), während auf der Hammelblutplatte starke hämolytische Reaktionen (+++ bis +++) zu verzeichnen sind. Andererseits beobachteten wir aber auch bei einem Strepto-

1) Vgl. hierzu auch Dold u. Hendriock, Brauns Beiträge zur klin. Chirurgie. Bd. 141. H. 1.

kokkenstamm (Nr. 89) ein völliges Fehlen der Hämolyse auf der Hammelblutagarplatte bei einer starken Hämolyse (+++) auf der Kaninchenblutplatte (das Verhalten auf der Menschenblutplatte konnte in diesem Falle nicht untersucht werden). Da uns dieser Befund besonders auffallend war, haben wir ihn in den folgenden Tagen nochmals wiederholt und haben stets das gleiche Resultat beobachtet.

Es ergibt sich also, daß die Blutart von großem Einfluß auf den Ausfall des hämolytischen Plattenversuchs ist. Die stärksten Reaktionen haben wir im allgemeinen beim Hammelblut und Pferdeblut beobachtet, jedoch sahen wir auch hier eine Ausnahme.

2) Die Abhängigkeit der Hämolyse von der Blutkonzentration.

Um den Einfluß der Blutkonzentration auf den Ausfall der hämolytischen Reaktion zu studieren, haben wir eine Reihe von Streptokokkenstämmen auf Hammelblutagar mit einem Gehalt von 1 Proz., 5 Proz., 10 Proz. und 20 Proz. gewaschenem Hammelblut in möglichst gleicher Weise ausgestrichen und nach 24 und 48 Std. Brutschrankaufenthalt (37° C) und weiteren 48stünd. Aufbewahrung bei Zimmertemperatur den Grad der Hämolyse abgelesen. Ein Beispiel dieser Versuche ist in der Tabelle II wiedergegeben.

2. Abhängigkeit der Hämolyse von der Blutkonzentration.

Streptokokkenstamm (Ablesung nach 48 Std.)	Hämolyse auf gewaschenem Hammelblutagar				Hämolyse auf gewaschenem Kaninchenblutagar	
	1%	5%	10%	20%	5%	10%
	schwer ablesbar			schwer ablesbar		
89	—	±	±	—	—	—
Seeger	±	±	±	—	—	—
M I	±	+	±	—	±	—
Aronson II	+	++	+	±	±	±
167	±	++	+++	++	+	+
40	+	+++	++	++	+++	++
74	±	+++	++	++	++	++
Dochez	+	++++	+++	++	+++	++
42	++	+++	+++	++	++	+
13	+	+++	+++	+	+++	+++
183	±	+++	+++	++	++	++

Wie man sieht, waren die Resultate auf dem 1proz. und auf dem 20proz. Hammelblutagar schwer ablesbar und in beiden Fällen nicht so deutlich, wie auf den Nährböden mit einer mittleren Blutkonzentration (5 Proz. und 10 Proz.). Vergleicht man die Ergebnisse auf dem 5proz. und 10proz. Hammelblutagar und die auf dem 5proz. und 10proz. Kaninchenblutagar, so kann man eine geringe Ueberlegenheit der 5proz. Blutkonzentration feststellen. Jedenfalls wird man, wenn man die Wahl hat, schon aus Sparsamkeitsgründen dem 5proz. Blutagar den Vorzug geben müssen.

3) Abhängigkeit der Hämolyse von der Vorbehandlung des Blutes (Wasch- oder Schüttelblut).

Bei der Herstellung des Blutagars wird entweder einfaches Schüttelblut, d. h. das durch Beschütteln mit Glasperlen und dergleichen defibrierte Blut, oder gewaschenes Blut verwendet, wobei das durch Schütteln defibrierte Blut

mit physiologischer Kochsalzlösung im Verhältnis von etwa 1:10 verdünnt, ausgeschleudert und von der überstehenden Serum-Kochsalzlösung abgetrennt wird. Der Vorgang des „Waschens“ des Blutes wird meist 3mal wiederholt. Es werden also auf diese Weise die Blutkörperchen vom Serum und anderen Bestandteilen (Blutplättchen) nach Möglichkeit befreit.

3. Abhängigkeit der Hämolyse von der Vorbehandlung des Blutes (Wasch- oder Schüttelblut).

Ergebnis der Hämolyseprobe auf Hammelblut		Streptokokkenstamm (Ablesung nach 48 Std.	Ergebnis der Hämolyseprobe auf Kaninchenblut	
5% gewaschen	5% geschüttelt		5% gewaschen	5% geschüttelt
—	—	89	—	—
±	±	89 (VIII. P.)	—	±
—	—	Seeger	—	—
(!) ±	++	Aronson I	±	+
±	+	Aronson II	±	+
(!) ±	++	M I	—	±
(!) +	++	74	++	+
++	+++	40	+	+
(!) ++	++++	Dochez	+	+
+++	+++	42	+	++
+++	+++	13	—	+
+++	+++	13 (III. P.)	+++	++++
(!) ±	++	167	+	+++ (!)
++	+++	167 (VI. P.)	+	++
(!) +	+++	183	+	+++ (!)

Es ist klar, daß ein Schüttelblutagar eine andere Zusammensetzung hat als ein Waschblutagar gleicher Konzentration. Der Schüttelblutagar enthält außer Blutkörperchen noch Serum, wovon der Waschblutagar höchstens Spuren besitzt. Es ist deswegen nicht verwunderlich, daß das Wachstum der Streptokokken auf dem Schüttelblutagar im allgemeinen üppiger erfolgt als auf dem entsprechenden Waschblutagar. Vielleicht hängt es wenigstens von Teil damit zusammen, daß bei unseren vergleichenden Untersuchungen auf dem Schüttelblutagar fast ausnahmslos eine stärkere Hämolyse zu verzeichnen war als auf dem entsprechenden Waschblutagar, wie aus der Tabelle III ersichtlich ist.

Es hat sich demnach bei unseren Versuchen ergeben, daß Blutart, Blutkonzentration und Art der Vorbehandlung des Blutes von sehr beträchtlichem Einfluß auf den Ausfall der hämolytischen Reaktion sind. Wenn man also die Rolle, welche die hämolytischen Streptokokken bei der Entstehung und Verbreitung des Scharlachs spielen, klären und zu vergleichbaren Resultaten kommen will, so wird man sich zunächst einmal auf eine einheitliche Methode zum Nachweis hämolytischer Streptokokken einigen müssen.

Wie wir gesehen haben, erwiesen sich in unseren vergleichenden Versuchen, von denen wir in den beigegeführten Tabellen nur Beispiele gaben, Hammel- und Pferdeblut, und zwar in Form von 5proz. Schüttelblut für den Nachweis der Hämolyse am günstigsten. Da die Beschaffung von Pferdeblut im allgemeinen schwieriger sein wird als die Beschaffung von Hammelblut, das ja schon für die Zwecke der Wassermannschen Reaktion und anderer Komplementbindungsreaktionen in vielen Kliniken und wohl in allen bakteriologischen Instituten vorrätig ist, möchten wir als Einheitsmethode die Verwendung von 5proz. Hammelschüttelblutagar vorschlagen. Es sei auch darauf hingewiesen, daß die permanente Standardisierungskommission des Völkerbundes auf ihrer Tagung im April 1928 in Frankfurt a. M. mit Bezug auf die Scharlachforschung

ebenfalls die Notwendigkeit einer einheitlichen Methodik zur Erzielung vergleichbarer Resultate betont hat. Unter allen Umständen sollte jeder Autor, der über hämolytische Bakterien (Streptokokken) berichtet, angeben, nach welcher Methode er gearbeitet hat.

Da neuerdings Sawtschenko¹⁾ ein Unterscheidungsverfahren zwischen Scharlach- und anderen Streptokokken, beruhend auf einer verschiedenen hämolytischen Reaktion auf Taubenblutagarplatten, angegeben hat, haben wir auch eine Nachprüfung dieser Methode vorgenommen.

Nach Sawtschenko kann man Scharlachstreptokokken von andersartigen hämolytischen Streptokokken auf 5proz. Taubenblutagar (5proz. Taubenblut zu 2proz. Agar) differenzieren, da gewöhnliche hämolytische Streptokokken auf diesem Nährboden einen hämolytischen Hof erzeugen, der sich vom zweiten Tage ab trübt und undurchsichtig wird, während der hämolytische Hof bei Scharlachstreptokokken klar und durchsichtig bleiben soll.

Unsere Untersuchungen wurden ausgeführt an 19 Scharlachstreptokokkenstämmen und an 12 gewöhnlichen hämolytischen Streptokokkenstämmen (jeder Stamm wurde mehrmals auf dem Taubenblutagar geprüft). Ergebnis: Der Grad der Hämolyse war im allgemeinen bei den Scharlachstreptokokken auf 5proz. Taubenblutagar schwächer als auf 5proz. Hammelblutagar (Schüttelblut), während bei den gewöhnlichen Streptokokken einige auf Hammel-, andere auf Taubenblut stärker hämolytisch wirkten.

Jedoch konnten wir einen durchgreifenden Unterschied in dem späteren Verhalten des hämolytischen Hofes auf 5proz. Taubenblutagar zwischen Scharlach- und anderen hämolytischen Streptokokken nicht feststellen.

Zusammenfassung.

1) An einer großen Zahl von Streptokokken wurde gezeigt, daß das Auftreten und der Grad der Hämolyse in hohem Grade von der verwendeten Blutart abhängig ist. — 2) Von den vergleichend geprüften 4 Blutarten (Menschenblut, Kaninchenblut, Hammelblut, Pferdeblut) wiesen die Hammel- und Pferdeblutagarplatten regelmäßig einen viel stärkeren Grad von Hämolyse auf als die Menschen- und Kaninchenblutagarplatten. Jedoch wurde bei einem Streptokokkenstamm bei wiederholten Prüfungen ein Fehlen der Hämolyse auf Hammelblutagar bei starker Hämolyse auf Kaninchenblutagar beobachtet. — 3) Der Ausfall der hämolytischen Reaktion ist weiterhin abhängig von der Blutkonzentration. Von den verglichenen Konzentrationen (1 Proz., 5 Proz., 10 Proz., 20 Proz.) geben die mittleren Konzentrationen (5 Proz. und 10 Proz., insbesondere 5 Proz.) im allgemeinen die stärksten Ausschläge, während die extremen Konzentrationen (1 Proz. und 20 Proz.) viel weniger deutliche und außerdem schwer ablesbare Reaktionen gaben. — 4) Auch die Art der Vorbehandlung des Blutes ist von Bedeutung für den Ausfall der hämolytischen Reaktion. Auf Blutagarplatten, die nicht-gewaschenes Schüttelblut enthielten, war die Hämolyse fast regelmäßig stärker als auf den entsprechenden Waschblutagarplatten. — 5) Das von Sawtschenko angegebene Unterscheidungsverfahren zwischen Scharlachstreptokokken und andersartigen hämolytischen Streptokokken (5proz.

1) Mitgeteilt von Herrn Prof. Stutzer (Rostow a. Don.) auf dem deutsch-russischen Scharlachkongreß in Königsberg 11. bis 14. 6. 28.

Taubenblutagar) hat sich uns nicht bewährt. — 6) Eine einheitliche Methode zum Nachweis hämolytischer Streptokokken ist die erste Voraussetzung zur Klärung der Frage, welche Rolle die hämolytischen Streptokokken in der Entstehung und Verbreitung des Scharlachs spielen. — 7) Zur Erzielung gleichmäßiger und vergleichbarer Resultate wird die Verwendung eines gleichartigen Nährbodens und zwar eines 5proz. Hammelblutagars (Schüttelblut) vorgeschlagen.

Nachdruck verboten.

Ueber Ruhrbazillen vom Typus E (Kruse).

(Aus der Staatlichen Bakteriologischen Untersuchungsanstalt Würzburg.)

Von Prof. Dr. **J. Leuchs** und Dr. **E. Plochmann**.

In einer früheren Arbeit (diese Zeitschrift Abt. I. Orig. Bd. 104. 1927. S. 347) konnten wir mitteilen, daß wir bei Untersuchung von Ruhrstühlen seit Jahren des öfteren Bakterienstämme gefunden hatten, die sich morphologisch und kulturell, wie Vertreter der Y-Flexner-Ruhrgruppe verhielten, ohne von entsprechenden Immunseris agglutiniert zu werden. Bei eingehender Untersuchung stellte es sich heraus, daß es sich bei diesen Kulturen um Stämme bzw. um Ausgangsformen des E-Typus der Kruseschen Einteilung der Ruhrbazillen handeln müsse. Die E-Ruhrbazillen unterscheiden sich von den Y-Flexner-Bazillen durch ihr serologisches Verhalten und durch ihr allerdings erst spät (nach 14—25tägiger Bebrütung) in Erscheinung tretendes Vermögen Milchzucker unter Säurebildung zu zersetzen.

Wir hatten beobachtet, daß die E-Ruhr-Bazillen auf festen Nährböden in zwei verschiedenen Kolonieförmigkeiten wuchsen, die wir als „gewölbt“ (g.) und „flach“ (fl.) unterschieden. Die gleiche Feststellung haben Elkeles und Schneider unabhängig von uns gemacht und veröffentlicht. Wir konnten weiterhin mitteilen, daß die Bazillen der zwei verschiedenen Kolonieförmigkeiten in morphologischer Hinsicht und in bezug auf ihre chemische Leistungsfähigkeit keine deutlichen Unterschiede erkennen ließen, während sie in ihrem serologischen Verhalten gegen entsprechende Immunsere recht erhebliche und hier konstante Unterschiede zeigten und sich auch hinsichtlich ihrer Virulenz sowie gegenüber der Einwirkung von Bakteriophagen verschieden verhielten.

Nachstehend soll über einige weitere, ausbauende Versuche berichtet werden, die wir über das verschiedene Verhalten zweier verschiedener Wuchsformen ein und derselben Keimart angestellt haben.

Wie wir bereits in unserer ersten Arbeit mitgeteilt haben, finden sich die beiden Kolonieförmigkeiten schon auf den mit Stuhlproben beimpften Platten des öfteren nebeneinander, wobei nach unseren Beobachtungen die g. Kolonien nicht selten an Zahl überwiegen. Wir haben bei weiteren 90 nach Abschluß dieser Arbeit im Juni 1927 bis heute festgestellten Fällen darauf geachtet, welche Kolonieförmigkeiten auf den direkt mit Stuhlproben beimpften Platten enthalten waren und 14mal ausschließlich g., 1mal ausschließlich fl., 78mal g. und fl. Kolonien in wechselndem Mengenverhältnis und 3mal g. und Mischkolonien (= M.) gefunden. Als M.-Kolonie bezeichnen wir eine Kolonieförmigkeit, die sich aus Wachstum mit den Eigentümlichkeiten der g., bzw. der fl. Kolonien zusammensetzt, sei es, daß die eine Hälfte der Kolonie aus g., die andere aus fl.

Wachstum besteht oder eine g. Kolonie mehr oder weniger vollständig mit fl. Wachstum umgeben ist. Werden die Platten längere Zeit beobachtet (mehrere Tage), so wachsen mehr oder weniger der ursprünglich g. Kolonien zu M. Kolonien aus, wie dies auch Elkeles und Schneider beschrieben haben.

Die fl. Kolonie läßt sich nun gut als solche weiter züchten. Impft man von ihr auf neue Agarplatten, so kommen auf diesen stets nur fl. Kolonien zur Entwicklung. Auch in Massenkulturen bleiben die Eigentümlichkeiten der fl. Wuchsform bei beliebigen vielen Umimpfungen erhalten.

Wir haben uns auf die verschiedenste Weise, jedoch stets vergeblich bemüht, aus der fl. Wuchsform einen Rückschlag in die g. zu erhalten. Es wurde auf die verschiedenst zusammengesetzten Nährböden (Agar, Gelatine, Bouillon, Serum, mit und ohne Traubenzucker-, Milchzucker-, Blut-, Galle-, Chinablau- und Malachitgrün-Zusatz), sowie auf Nährböden verschiedener Reaktion verimpft, es wurde unter aeroben und anaeroben Bedingungen, bei 37° und bei Zimmertemperatur gezüchtet, die Kulturen dabei in möglichst kurzen Zwischenräumen (Stunden) oder erst nach Tagen und Monaten (bis zu 9 Monaten) weiter geimpft, stets kamen bei Ausspatelung auf Platten nur Kolonien der fl. Form zur Entwicklung. Auch durch Tierpassagen (bis zu 10 Mäusepassagen) gelang es nicht, die fl. Wuchsform in die g. zurückzuführen.

Gänzlich verschieden verhält sich die g. Wuchsform, wie wir ebenfalls schon früher mitgeteilt haben. Bei Ausspatelung einer g. Kolonie auf neue Agarplatten kommen immer wieder g. und fl. Kolonien in wechselndem Mengenverhältnis zur Entwicklung, daneben gelegentlich auch M. Kolonien. Wir haben diese Erscheinung auch bei den inzwischen neu gezüchteten Stämmen aus den 89 Fällen, bei welchen auf den Stuhlplatten g. Kolonien gefunden worden waren, bestätigt gefunden. Auch diesem der g. Kolonie eigentümlichen Verhalten sind wir auf den verschiedensten Nährböden nachgegangen und konnten feststellen, daß sie auf den meisten in Erscheinung tritt. Es gelingt somit im allgemeinen nicht, auf einer Kulturplatte nur g. Kolonien zur Entwicklung zu bringen bzw. wenn auf einer Platte bei kürzerer Bebrütung einmal zunächst nur g. Kolonien aufgegangen sind, diese insgesamt längere Zeit als solche zu erhalten. Stets werden auch in letzterem Falle mehr oder weniger g. Kolonien nach kürzerer oder längerer Zeit, wenn wir uns so ausdrücken dürfen, zu fl. Wachstum entarten. Es muß daher angenommen werden, daß auch in Massenkulturen (z. B. Schrägagarröhrchen) die mit g. Kolonie angelegt wurden, stets Individuen in größerer oder kleinerer Menge enthalten sind, die bei Ausspatelung auf Platten fl. Kolonien bilden würden.

Auf Loeffler-Serumplatten war der Unterschied zwischen g. und fl. Kolonien weniger deutlich und glaubt man, hier des öftern bei oberflächlicher Betrachtung nur g. Kolonien vor sich zu haben. Genauere Durchsicht ließ indeß auch hier an feinen Unterschieden die fl. Form erkennen, die sich auch durch ihr in unserer ersten Arbeit bereits beschriebenes, weiter unten noch ausführlicher zu behandelndes agglutinatorisches Verhalten von der g. unterschied.

Nur auf Agarplatten, die mit Hammelblut¹⁾ etwa im Verhältnis 1:9 versetzt werden, bleibt nach unseren Beobachtungen bei Beimpfung mit g. Kolonie die Abspaltung der fl. Form aus, so daß nur g. Kolonien aufgehen. Auch bei mehrtägiger Beobachtung, sei es bei 37° oder bei Zimmertemperatur, erhalten sich diese zunächst als solche und weisen die serologischen Kennzeichen der g. Kolonien auf. Bei längerer Beobachtung kommen allerdings auch auf den Hammelblutplatten M. Kolonien zur Entwicklung, doch ist der Unterschied gegenüber in gleicher Weise und gleichzeitig beimpften Kontrollplatten mit

1) Ob andere Blutarten gleiche Dienste leisten, wurde nicht geprüft.

Als Antigen dienten lebende Aufschwemmungen in je 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung des Bakterienrasens von Schrägagarröhrchen, die mit Material von g. bzw. fl. Kolonie beimpft und 24 Std. bebrütet worden waren.

Immunserum 1:10	Bakterien- aufschwemmung Komplement (1:10)	Sämtliche Röhrchen mit phys. Kochsalzlösung auf 0,5 ccm aufgefüllt. $\frac{1}{3}$ Std. Bindung bei 37°	Hämolyt. Ambozeptor (Gebrauchsdosis) und Hammel- blut (1:20) aa	1 Stunde bei 37° dann Zimmertemperatur.	Ergebnis (24 Stunden nach Anstellung des Versuches) bei Verwendung von			
					Serum gewölbt mit		Serum flach mit	
					Aufschw. g.	Aufschw. fl.	Aufschw. g.	Aufschw. fl.
0,25	0,15	0,25	0,5		++	++	±	++
0,1	"	"	"		++	++	±	++
0,05	"	"	"		+	±	±	++
0,01	"	"	"		±	±	±	+

Kontrollen: Entsprechende Mengen normales Kaninchenserum mit den beiden Bakterienaufschwemmungen: sämtlich komplette Lösung.

Immunsera allein

Bakterienaufschwemmungen allein } sämtliche komplette Lösung.

Bakterienaufschwemmungen nur mit Hammelblutkörperchen: keine Hämolyse.

Zeichenerklärung: ++ = komplette Hemmung der Hämolyse.

+ = Blutkörperchen etwa zur Hälfte gelöst, „große Kuppe“.

± = Blutkörperchen zu $\frac{3}{4}$ oder mehr gelöst, „kleine Kuppe“.

Während somit Serum g. sowohl im Verein mit Aufschwemmung g. als auch Aufschw. fl. nahezu gleich stark Komplement bindet, zeigt Serum fl. mit Aufschw. g. deutlich geringeres Komplementbindungsvermögen als mit Aufschw. fl. Wenn im Komplementbindungsversuch im Gegensatz zum Agglutinationsversuch Serum fl. auch mit Aufschw. g. reagiert, so findet dies darin seine Erklärung, daß zur Herstellung der Aufschw. g. mit Material von g. Kolonie beimpfte Schrägagarkulturen verwendet wurden, die wie schon wiederholt hervorgehoben, stets eine Mischung von g. und fl. Wachstum darstellen. Bei den benötigten, großen Mengen an Bakterien-Aufschwemmungen für die Komplementbindungsversuche, wäre die Herstellung reiner Aufschwemmungen von g. Wachstum durch Benützung nur g. Kolonien von Platten zu mühselig gewesen¹⁾.

Auch im Tierversuch lassen die beiden Wachstumsformen der E-Ruhrbazillen und die mit ihnen hergestellten Immunsera verschiedene Wirksamkeit erkennen.

Einen bereits in unserer ersten Arbeit mitgeteilten Versuch, bei dem von 2 Meerschweinchen, welche mit je $\frac{1}{50}$ Normallöse von g. bzw. fl. Kolonie des gleichen Stammes intraperitoneal geimpft worden waren, das mit g. Kolonie gespritzte innerhalb 24 Std. zugrunde ging, während das mit fl. Kolonie behandelte überlebte, haben wir mit 2 anderen Stämmen wiederholt. Mit einem dieser Stämme erhielten wir ein entsprechendes Ergebnis, bei dem 2. offenbar weniger virulenten Stamm überlebten bei Verabreichung von je $\frac{1}{50}$ N. Oe. beide Tiere.

Für weitere Versuche diente uns die weiße Maus als Versuchstier.

Hierbei erwiesen sich bei Verfütterung beide Wuchsformen als wirkungslos.

Die Ergebnisse bei subkutaner und intraperitonealer Infektion sind in nachstehender Tabelle (S. 402) zusammengestellt.

Somit gelingt es mit $\frac{1}{5}$ Normallöse der g. Wuchsform Mäuse von ca. 20 g bei intraperitonealer Infektion regelmäßig innerhalb 24 Std. zu töten, während vom Wachstum fl. noch 2 N. Oe. also die 10fache Menge vertragen werden.

1) Anmerkung bei der Korrektur: Ueber einwandfreie Gestaltung des Versuches siehe weiter unten.

Versuch B.

1)	$\frac{1}{5}$ N. Oe. „Fink“ g.	+	0,3 Serum g.:	Maus lebt
2)	„ „ „	+	0,3 Serum fl.:	Maus tot nach 18 Std.
3)	„ „ „	:	„ „ „	18 „
4)	3 N. Oe. „Fink“ fl.	+	0,3 Serum fl.:	„ „ „ 24 „
5)	„ „ „	+	0,5 Serum fl.:	„ „ „ 18 „
6)	„ „ „	+	0,7 Serum fl.:	„ „ „ 24 „
7)	„ „ „	+	0,3 Serum g.:	Maus lebt
8)	„ „ „	:	„ „ „	Maus tot nach 18 Std.
9)	„ „ „	:	0,7 Serum fl.:	Maus lebt.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß Serum g. sowohl gegen die Infektion mit g. als auch mit fl. Wachstum schützt, während Serum fl. weder gegen das homologe Wachstum, — obwohl es im Agglutinationsversuch gegen dieses einen Titer von 1:4000 (Versuch A) bzw. 1:8000 (Versuch B) aufwies — noch, wie zu erwarten, gegen das heterologe Wachstum Wirksamkeit zeigte.

Einige der in vorstehenden Virulenz- und Serum-Versuchen infizierten und überlebenden Tiere wurden kürzere oder längere Zeit nach der Infektion auf aktive Immunität geprüft.

Prüfung auf aktive Immunität

Maus vorbehandelt mit ¹⁾	Nachinfektion nach		Ergebnis
	Tagen	mit ¹⁾	
A. 1) $\frac{1}{10}$ N. Oe. g.	18	4 N. Oe. fl.	am folgenden Tag krank, erholt sich
2) $\frac{1}{5}$ N. Oe. g. + 0,3 Serum g.	15	dgl.	„ „ „ „ „ „
3) 0,25 Bouillon +	15	„	tot nach 40 Stunden
0,3 norm. Serum	} Kontrollen	„	„ „ 24 „
4) —		„	„ „ 24 „
B. 1) 1 N. Oe. fl.	21	$\frac{1}{5}$ N. Oe. g.	„ „ 40 „
2) dgl.	42	dgl.	„ „ 24 „
3) 2 N. Oe. fl.	42	„	„ „ 40 „
4) Kontrolle	—	„	„ „ 20 „
C. 1) $\frac{1}{20}$ N. Oe. g.	11	$\frac{1}{5}$ N. Oe. g.	lebt
2) dgl.	11	4 N. Oe. fl.	„ „ „ „
3) 2 N. Oe. fl.	11	$\frac{1}{5}$ N. Oe. g.	am folgenden Tag krank, erholt sich
4) dgl.	11	4 N. Oe. fl.	lebt
5) —	—	$\frac{1}{10}$ N. Oe. g.	tot nach 24 Stunden
6) —	—	$\frac{1}{20}$ N. Oe. g.	„ „ „ „
7) —	—	4 N. Oe. fl.	„ „ 2 Tagen

Auch hierbei erwiesen sich also die mit g. Wachstum 1mal vorbehandelten Tiere sowohl gegen nachträgliche Infektion mit g. als auch mit fl. geschützt. Bei 1maliger Vorbehandlung mit 2 N. Oe. fl. Wachstums, wurde das mit tödlicher Dosis g. nachinfizierte Tier zwar krank, erholte sich aber wieder, das mit tödlicher Dosis fl. nachinfizierte Tier überlebte ohne Krankheitserscheinungen zu zeigen (Versuch C). Danach wäre ein, wenn auch geringgradiger, Schutz auch mit fl. gegen beide Wachstumsformen zu erzielen. In einem anderen Versuch (B), bei welchem allerdings die Nachinfektion bedeutend später erfolgte, so daß eine etwa vorhanden gewesene erworbene Immunität schon wieder verschwunden gewesen sein konnte, hat die Vorbehandlung mit 1 und 2 N. Oe. fl. indessen nicht gegen g. geschützt. Die Versuche wurden, da sie nur theoretisches Interesse haben dürften, nicht weiter ausgedehnt.

1) Sowohl bei der Vorbehandlung als auch bei der Nachinfektion stammten die verschiedenen Wuchsformen vom gleichen Stamm: Fink.

Endlich soll noch über einige Beobachtungen, die wir mit Bakteriophagen an unseren E-Stämmen machen konnten, berichtet werden.

Wir hatten uns durch Abimpfung in Bouillon von 1) Coli-, 2) Paratyphus B- und 3) Ruhr E-Kolonien, die auf Stuhlplatten in „Flutterformen“ (Gildemeister) gewachsen waren, und Erhitzung dieser Aufschwemmungen während $\frac{1}{2}$ Std. auf 56° „Lysine“ hergestellt, welche gegen die zugehörigen Bakterienstämme in der bekannten Weise sowohl in Bouillon (mit Ausnahme des E-Lysins) als auch auf festen Nährböden wirksam waren. Wurden Bouillonröhrchen mit einigen Oesen des Coli- oder Paratyphus-Lysins und den zugehörigen Stämmen, Kontrollröhrchen nur mit letzteren beimpft und bei 37° bebrütet, so zeigten die Kontrollröhrchen nach einigen Stunden starke Trübung, während die Lysinröhrchen klar blieben. Wurden die klar gebliebenen Lysinröhrchen wieder $\frac{1}{2}$ Std. auf 56° erhitzt, so konnte das Lysin von ihnen auf neue mit den entsprechenden Bakterien beimpfte Bouillonröhrchen übertragen und das Lysin auf diese Weise in beliebig langen Reihen fortgezüchtet werden. Verimpfte man die genannten Bakterienstämme derart auf Platten, daß rasenförmiges Wachstum entstehen mußte, brachte Tropfen der zugehörigen Lysine auf und bebrütete, so blieb im Bereich der Tropfen das Wachstum aus.

Wurden nun diese Lysine auf festen Nährböden im Tropfversuch gegen verschiedene E-Ruhrstämmen geprüft, und zwar einerseits gegen die g., andererseits gegen die fl. Wuchsform, so zeigten sie sich gegen mehrere dieser Stämme wirksam, jedoch nur gegen das fl. nicht gegen das g. Wachstum derselben, während bei anderen Stämmen keine der beiden Wuchsformen beeinflußt wurde. So wirkte das Coli-Lysin auf 2 von 6 geprüften Stämmen überhaupt nicht, von den 4 übrigen Stämmen wurde nur das fl. Wachstum, nicht aber das g. gehemmt. Das Paratyphuslysin wurde an 19 E-Stämmen geprüft und erwies sich dabei gegen das fl. Wachstum von 17 dieser Stämme stark, von 2 Stämmen schwach wirksam, auf das g. Wachstum sämtlicher Stämme unwirksam oder doch nur — bei einigen Stämmen — ganz geringgradig wirksam. Das E-Lysin war bei Prüfung an 12 Stämmen, gegen 4 Stämme nur in der fl. Wuchsform wirksam, gegen die übrigen 8 Stämme in beiden Wuchsformen unwirksam.

Wurde mit Lysin vermischter Agar in Platten ausgegossen und diese mit Material von einer g. Kolonie eines empfindlichen Stammes beimpft, so gingen auf diesen Platten nur g. Kolonien auf, während auf Kontroll-Agarplatten ohne Lysin bei dieser Beimpfungsart stets neben g. auch fl. und M.-Kolonien zur Entwicklung kamen. Die g. Kolonien blieben auf den Lysinplatten auch während mehrtägiger Beobachtung als solche erhalten. Es ist also möglich auf lysinhaltigem Agar die flache Wuchsform zu unterdrücken und die g. rein zu züchten.

Impfte man Material von fl. Kolonien empfindlicher Stämme auf lysinhaltige Platten, so blieb je nach der Empfindlichkeit der Stämme bzw. der Stärke des Lysins Wachstum entweder ganz aus, auch nach mehrtägiger Bebrütung, oder es gingen „Flutterformen“ auf, die bei mehrtägiger Bebrütung immer zerfressener und durchsichtiger wurden. Des öftern schossen dann auf diesem kaum mehr sichtbaren Wachstum runde, knopfförmige, ziemlich undurchsichtige Kolonien von lysinresistenten Keimen auf. Dem Aussehen nach wären sie als g. Kolonien anzusprechen gewesen und hätte demnach hier der Rückschlag von fl. in g. Wachstum stattgefunden, den wir nach dem oben gesagten sonst auf keine Weise erhalten konnten. Prüfte man diese Tochterkolonien jedoch agglutinatorisch, so erwiesen sie sich entweder als inagglutinabel, oder sie zeigten das agglutinatorische Verhalten der fl. Kolonien, d. h. sie wurden sowohl von Serum g. als auch von Serum fl. geklumpt. Wurde von den Tochterkolonien auf neue Platten ausgeimpft, dann erhielt man auf diesen entweder überhaupt kein Wachstum, die Keime erwiesen sich also als abgestorben, oder

aber es gingen nur fl. Kolonien auf. Um einen Rückschlag in die g. Form dürfte es sich also auch bei diesen Tochterkolonien nicht handeln.

Nach obigen Ausführungen muß es mit lysinhaltigem Agar auch möglich sein, g. Wachstum in Massenkulturen rein zu erhalten. Wurden lysinhaltige Schrägagarröhrchen mit Material von g. Kolonie eines empfindlichen Stammes beimpft, so entwickelte sich auf ihnen ein ebenso üppiger Bakterienrasen, wie auf Kontrollagarröhrchen ohne Lysin. Beimpfte man mit Material aus fl. Kolonie des gleichen Stammes, so zeigten unter Umständen nur die Kontrollröhrchen Wachstum, nicht die lysinhaltigen. Es darf also angenommen werden, daß in solchen Fällen auch in den aus g. Kolonien beimpften Lysin-Röhrchen nur g. Wachstum stattfindet, im Gegensatz zu ebenso beimpften Schrägagarröhrchen ohne Lysinzusatz, deren Bakterienrasen stets g. und fl. Wachstum gemischt enthält.

Der Beweis, daß diese Annahme zu Recht besteht, ließ sich auch durch den Agglutinationsversuch erbringen.

Ein Schrägagarröhrchen ohne und ein zweites mit Lysinzusatz (4 ccm Agar + 0,5 ccm Lysin) wurden beide mit Material von einer g. Kolonie eines lysinempfindlichen E-Stammes beimpft, 24 Std. bebrütet und dann gegen Serum g. und fl. austitriert.

Serumverdünnungen	Agglutination des Materials von			
	lysinfreiem Agar		lysinhaltigem Agar	
	Serum g. durch	Serum fl.	Serum g. durch	Serum fl.
1: 200	+++ gr. ¹⁾	++ f. ²⁾	+++ gr.	—
1: 400	+++ „	+ „	+++ „	—
1: 800	++ „	+ „	++ „	—
1: 1600	+ „	+ „	±	—
1: 3200	± f.	± „	—	—
1: 6400	± „	± „	—	—

Der Bakterienrasen des lysinhaltigen Röhrchens wurde demnach im Gegensatz zu dem des lysinfreien Röhrchens nur vom Serum g. agglutiniert, nicht vom Serum fl., so daß also hier auch die Massenkultur die Eigenschaften der reinen g. Kolonie zeigte. Aus dem Umstand, daß der Versuch auch mit 48 Std. lang bebrüteten Röhrchen in gleicher Weise verlief, dürfen wir den Schluß ziehen, daß es auch nach dieser Zeit in den Lysinröhrchen noch nicht zur Entwicklung lysinresistenter fl. Keime gekommen war.

Es müßte sich demnach mit Material von lysinhaltigen Röhrchen auch der Komplementbindungsversuch einwandfreier gestalten lassen, als er oben von uns wiedergegeben wurde³⁾.

Der Einfluß des Lysins ist auf seine Einwirkungszeit beschränkt, eine Nachwirkung auf jüngere nicht mehr mit ihm in Kontakt befindliche Generationen ist nicht zu beobachten. Schon auf der ersten lysinfreien Platte, die von einem lysinhaltigen mit g. bewachsenen Röhrchen beimpft wird, zeigen sich wieder fl. neben g. Kolonien, schon das erste in gleicher Weise beimpfte, lysinfreie Schrägagarröhrchen enthält wieder eine M.-Kultur und zeigt deren agglutinatorische Eigentümlichkeiten.

Auffällig war, daß sich die Lysine in flüssigen Nährböden mit E-Ruhrstämmen nicht fortführen ließen, und zwar auch nicht mit der flachen Wuchs-

1) gr. = grobflockig.

2) f. = feinflockig.

3) Anmerkung bei der Korrektur: Dies ist, wie wir uns inzwischen überzeugt haben, in der Tat der Fall: eine Aufschwemmung des Wachstums von einem lysinhaltigen Agarröhrchen bindet Komplement nur mit Serum g., nicht mit Serum fl.

form derselben, obwohl sie, wie eben mitgeteilt, auf festen Nährböden gegen die flache Form wirksam waren und sich — wenigstens das Coli- und Paratyphus-lysin — mit den zugehörigen Coli- und Paratyphusstämmen auch in flüssigen Nährböden unbegrenzt erneuern ließen. Wurden Bouillonröhrchen 1) mit Lysin und Material von g. E-Kolonie, 2) mit Lysin und fl. E-Kolonie, 3) mit Lysin und dem dazu gehörigen Coli- oder Paratyphusstamm, 4) 5) 6) nur mit g. bzw. fl. Kolonie bzw. Coli- oder Paratyphusbazillen beimpft und bei 37° bebrütet, so trübten sich die Röhrchen 1) und 2) ungefähr in der gleichen Zeit wie die Kontrollröhrchen 4) 5) und 6), während das Röhrchen 3) klar blieb. Letzteres enthielt nach ½stünd. Erhitzung auf 56° wieder wirksames Lysin gegen die zugehörigen Coli- oder Paratyphusstämme und zwar sowohl bei Prüfung, in flüssigen als auch auf festen Nährböden und bei Prüfung auf festen Nährböden auch gegen das fl. Wachstum empfindlicher E-Stämme, während die getrübbte in gleicher Weise erhitzte Bouillon der Röhrchen 1) und 2) sowohl in flüssigen als auch festen Nährböden gegen E-Stämme wirkungslos war.

Hinsichtlich Klinik und Epidemiologie der E-Ruhr ließen sich auf Grund der seit Niederschrift unserer ersten Arbeit festgestellten, weiteren 90 Fälle neue Erkenntnisse nicht gewinnen. Hervorgehoben sei nur, daß von diesen 90 Fällen 3 tödlich endeten. Die Todesfälle betrafen 1) ein männliches Kind von 10 Wochen, gest. am 10. Krankheitstag, 2) eine 29jährige, kräftige, sonst durchaus gesunde Landwirtsfrau, gest. am 2. Krankheitstag nach sehr akut beginnender, als Gastroenteritis mit zuerst wässerigen, dann breiigen Durchfällen verlaufender Erkrankung mit sofort einsetzender Herzschwäche. In den zur Einsendung gebrachten Leichenorganen konnten die Erreger nur in Darmteilen, nicht in Blut, Hirn, Magen, Leber, Galle und Milz nachgewiesen werden, 3) eine 48jährige geisteskrankte Witwe, gest. am 17. Krankheitstag.

Literatur.

Außer der bereits in unserer ersten Arbeit (diese Ztschr. Abt. I. Bd. 104. 1927. S. 347) aufgeführten.

Braun u. Ließ, Ztschr. f. Hyg. Bd. 88. 1919. S. 251. — Clayton, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 87. 1927. S. 470. — Elkeles, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 103. 1927. S. 57. — Elkeles u. Schneider, Ebenda. Bd. 103. 1927. S. 48. — Fraser, Kinloch, Smith, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 86. 1927. S. 370. — Fyfe, Ebenda. Bd. 89. 1928. S. 364. — Gildemeister, Berl. klin. Wochenschr. 1922. S. 46. — Kruse, Allgemeine Mikrobiologie. Leipzig 1910. S. 1122. — Marakami, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 101. 1927. S. 377. — Müller, R., Ebenda. Bd. 58. 1911. S. 97. — Sonne, Ebenda. Bd. 75. 1915. S. 408 u. Bd. 76. 1916. S. 65.

Im August 1928.

Nachdruck verboten.

Beitrag zur Kenntnis der Darmprotozoen in den Niederlanden, insbesondere der *Entamoeba histolytica*.

Von Dr. med. **F. H. ter Poorten.**

Mit 1 Abbildung im Text.

Einleitung.

Seit etwa 10 Jahren ist es vielen Forschern aufgefallen, daß in manchen nicht tropischen Gegenden bei Personen, die niemals aus der gemäßigten Zone herausgekommen sind, eine Infektion mit *E. histolytica*, die sich kund gibt durch zystenhaltige Fäzes, kein seltenes Ereignis ist. Auch Amöbenruhr und Amöbenhepatitis werden als autochthone Krankheit öfter beobachtet als früher.

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich nur mit der Verbreitung der Darmprotozoen unter anscheinend darmgesunden Personen, nicht aber mit der Frage, welche Faktoren den Ausbruch der Amöbenkrankheit begünstigen.

Die wichtigsten Untersuchungen in Deutschland sind die von Hetzer (13), Fischer (9, 10), Hage (12), Bach und Kiefer (3), Jung und Sell (14) sowie von Bach (1, 2).

Hetzer hat 1914 unter 427 Personen in Bonn keinen *E. histolytica*-Träger gefunden, während Bach und Kiefer 8 Jahre später in derselben Stadt unter 201 Erwachsenen (Geistesranke, Studenten u. a.) 6,46 Proz. beobachtet hat. Dieser Befund ist um so bedeutungsvoller, weil, wie auch aus meinen Untersuchungen erhellt, das Hetzer zur Verfügung stehende Material (Insassen einer Irrenanstalt und dsgl.) die meisten Chancen bot, *E. histolytica*-Träger anzutreffen.

Es ist gar nicht überraschend, daß man für diese verschiedenen Befunde die Verhältnisse vor und nach dem Weltkriege verantwortlich gemacht hat. Die Ruhramöbe sollte durch die fremden Besatzungstruppen ins Rheinland eingeschleppt sein [Bach (2)]; dort scheint allerdings die Infektionsdichte eine größere zu sein, als in den mehr von der ehemaliger Westfront entfernten Gegenden. So sind nachfolgende Prozentzahlen verzeichnet bei:

Hage, Jena, 1922.	326 Erwachsene	mit 0,9 Proz. <i>E. histolytica</i>
	74 Kinder	„ 0 „
Fischer, Göttingen, 1919.	120 Erwachsene	„ 1,6 Proz. „
„ 1920/1921.	200 „	„ 1,0 à 3,5 Proz. „
Jung und Sell,		
Bayern, Schwaben, 1921.	98 Frauen	„ 0 „
„ „ 1921.	96 Männer	„ 0 „
„ „ 1921.	25 Kinder	„ 0 „

1924 veröffentlichte Bach (1) seine an 221 Kindern angestellten Untersuchungen. Er fand:

<i>E. histolytica</i>	1,4 Proz.
<i>E. coli</i>	15,8 „
<i>E. tenuis</i>	1,4 „
<i>E. nana</i>	5,9 „
Jodzysten	2,3 „
<i>Lambliia intestinalis</i>	24,9 „
<i>Chilomastix mesnili</i>	1,4 „

Zuvor hatten Bach und Kiefer bei Erwachsenen 6,96 Proz. *Lambliia intestinalis* gefunden.

Auch aus Frankreich und vor allem aus England liegen viele Beobachtungen über die Darmfauna vor. Ravaut und Krolunitsky (17) (zit. in Dobells Report) fanden unter 200 Personen in Frankreich 34 *Histolytica*-Zystenträger, von denen 24 eine Ruhranamnese hatten, 10 nicht. Hieraus schlossen sie, daß 5 Proz. der gesunden Bevölkerung in diesen Gegenden Zystenträger seien.

Interessant sind die von Matthews und Malins Smith (16) und die von Dobell e. s. (7) veröffentlichten Untersuchungsergebnisse.

Allerdings muß hierbei berücksichtigt werden, daß die englischen Forscher die *E. tenuis* nicht als eine besondere Spezies betrachten, wie dies in Deutschland und Niederland üblich ist, sondern nur als eine kleine Variante der *E. histolytica*, ein „small strain“. In den *E. histolytica*-Zahlen der Tabelle I (und II) sind also auch eventuell *E. tenuis*-Infektionen eingeschlossen.

Die Befunde verschiedener Forscher, die in Dobells Report verzeichnet sind, sind aus Tabelle II ersichtlich. Die näheren Angaben über Zystengröße

Tabelle I.
Matthews und Malins Smith.

	Personen, die England niemals verlassen hatten					Von der Kriegsfront heimgekehrte Soldaten	
	Inassen eines Irrenhauses	Krankenhauspatienten (Erwachsene)	Armee-rekruten	Kinder	Studenten Kadetten	mit Ruhr-anamnese	ohne Ruhr-anamnese
Zahl d. untersuchten Personen	207	450	1098	548	41	4063	450
<i>E. histolytica</i>	9,7 %	1,5 %	5,6 %	1,8 %	1 Träger	7,0 %	6,4 %
<i>E. coli</i>	45,9 „	6,7 „	18,2 „	11,1 „	11 „	15,2 „	14,2 „
<i>E. nana</i>	12,1 „	2,4 „	5,5 „	2,7 „	1 „	.	.
Jodzysten	„	0,2 „	0,4 „	0,2 „	.	.	.
<i>Lamblia intestinalis</i>	3,4 „	6,0 „	7,0 „	14,1 „	1 „	9,9 „	6,0 „
<i>Chilomastix mesnili</i>	23,2 „	1,5 „	0,2 „	1,8 „	0 „	3,6 „	2,0 „

haben mir gestattet, unter den 1009 untersuchten Personen 3 *E. tenuis*-Infektionen heraus zuholen, d. h. kaum 0,3 Proz.

Tabelle II.
Dobell c. s.

	Personen, die England niemals verlassen hatten										
	Birmingham. Erwachsene Sanatoriumspatienten	Brighton. Erwachsene Krankenhauspatienten	Bristol. Krankenhauspatienten. Insassen einer Arbeitsanstalt		Leeds. Krankenhauspatienten		Sheffield. Krankenhauspatienten		Reading. Krankenhauspatienten		
			Erwachsene	Kinder	Erwachsene	Kinder	Erwachsene	Kinder	Männer	Frauen	Kinder
Zahl der untersuchten Personen	72 ♂ 29 ♀	55	178	49	210	128	111	57	42	55	23
<i>E. histolytica</i>	6 a)	1	3,3 %	2,0 %	1,4 % b)	1,6 %	1,8 % c)	5,3 %	0	3 d)	0
<i>E. coli</i>	28	10	53,9 „	18,3 „	21,9 %	13,3 „	26,1 %	24,6 „	.	.	.
<i>E. nana</i>	7	4	7,8 „	2,0 „	2,9 „	4,7 „	6,3 „	7,0 „	.	.	.
Jodzysten	1
<i>Lamblia intest.</i>	5	2	3,9 „	16,3 „	3,8 „	39,8 „	7,2 „	15,8 „	.	.	.
<i>Chilomastix mesnili</i>	1	3	13,4 „	0 „	12,4 „	7,8 „	5,4 „	5,3 „	.	.	.

a) 5 ♂ und 1 ♀, also 6,9 Proz. Träger bei Männern, 3,4 Proz. bei Frauen.

b) 1 Person mit *E. tenuis* (0,5 Proz.).

c) 1 Person mit *E. histolytica* + *E. tenuis*.

d) Alle 3 Frauen aus demselben Krankenzimmer, mit *E. tenuis*.

Ueber die Verbreitung der Darmprotozoen in Holland berichten uns Bijlsma (6), Krediet (15) und Rodenhuis (19), deren Untersuchungsergebnisse in Tabelle III (S. 409) zusammengestellt sind.

Es ist zu bedauern, daß Angaben aus früherer Zeit nicht vorliegen. Holland steht jedoch seit Jahrhunderten in regelmäßigem und lebhaftem Verkehr mit den Tropen. Dieser Verkehr hat nicht, wie in den kriegführenden Ländern

Tabelle III.
Bijlsma, Krediet, Rodenhuis.

	Bylsma. Soldaten	Krediet. Krankenhauspatienten Leiden			Rodenhuis. Krankenhauspatienten den Haag, meist erwachsene ♂ und ♀
		♂	♀	Kinder	
Zahl der untersuchten Personen	200	60	28	12	243
<i>E. histolytica</i>	11 %	6	1	0	4,9 %
<i>E. coli</i>	26,5 „	18	8	4	19,9 „
<i>E. tenuis</i>	17,0 „	7	1	1	5,8 „
<i>E. nana</i>	8,0 „	15	7	3	17,3 „
Jodzysten	14,0 „	10	2	1	3,3 „
<i>Lamblia intestinalis</i>	7,5 „	7	5	3	4,5 „
<i>Chilomastix mesnili</i>	3,5 „	3	2	0	0,4 „

während und nach den Kriegsjahren eine akute Steigerung erfahren. Trotzdem begegnet man auch hier in den letzten Jahren autochthonen Amöbenkrankheiten nicht allzu selten, und zwar mehr als früher. Es wäre daher interessant, zu wissen, wie vor 1914 die Darmprotozoen in Holland sich verhielten.

1926 und 1927 stand mir Stuhlmaterial verschiedener Herkunft zur Verfügung, weswegen ich mich entschloß, durch eigene Untersuchungen das Thema der Protozoenverbreitung in Holland und die sie beeinflussenden Faktoren näher zu betrachten.

Herrn Prof. Schüffner, Direktor des tropenhygienischen Instituts zu Amsterdam, danke ich für die Kontrolle meiner Befunde, und weiter allen, die mir durch Stuhlbeschaffung behilflich waren.

Technik.

Weil die vegetativen Formen, die nach einem Laxans oft an Stelle der dauerhaften Zysten abgehen, schnell absterben und darum manche Protozoeninfektion nicht erkannt werden könnte, habe ich nur spontan entleerte Fäzes untersucht; dies konnte bisweilen erst 1—2 Tage später stattfinden. Die nachstehenden Ergebnisse erhielt ich durch 1malige Untersuchungen der herangezogenen Personen.

Von jeder Fäzesprobe wurden angefertigt ein Eosin-, ein Jod-Jodkali- und ein Sammelpräparat nach Bayer; vielfach wurde auch feucht fixiert und nach Heidenhain gefärbt (Rodenhuis (18).

Die außerhalb Hollands wenig gebrauchte Eosinmethode nach Kuenen und Swellengrebel — Zerreibung der Fäzes in 2proz. wässriger Eosinlösung — gestattet einen raschen Ueberblick, weil die lebenden Zysten sich weiß gegen den rosa Hintergrund abheben. Allerdings sind tote Zysten schwerer zu erkennen; sie sind leichter auffindbar im Jod-Jodkali (2:3:100)-präparat.

Die Sammelmethode von Bayer hat mir vorzügliche Dienste geleistet. Alle Protozoenzysten, abgesehen von seltenen Fällen die Jodzysten, erscheinen erheblich angereichert; die Durchmusterung der Fäzes und die Ausmessung größerer Zystenserien kann also rascher vor sich gehen. Rodenhuis hat überdies gezeigt, daß im Bayer-Präparat der Durchmesser der Zysten sich nicht ändert.

Die nachfolgenden Zahlen zeigen die Vorzüge der Sammelmethode:

Die *E. histolytica* wurde in 19 Proz. der Fälle nur im Bayer-Präparat gefunden, *E. coli* in 40 Proz., *E. tenuis* in 16 Proz., *E. nana* in 21 Proz., Jodzysten in 10 Proz. und *Lamblia* in 13 Proz.

Dagegen ist für Blastozysten die Methode von Bayer ganz ungeeignet; sie ist, kurz gesagt, folgende:

Zirka 1 g der Fäzes wird in einem mit Gummipropf versehenen Glaskolben, eventuell nach vorherigem Zerreiben im Mörser mit 30 ccm des folgenden Gemisches geschüttelt:

Kupferchlorid, $\text{CuCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$,			
Essigsäures Kupfer $(\text{CH}_3\text{—COO})_2\text{Cu} \cdot \text{H}_2\text{O}$,	āā	600	mg
Formalin (33 Proz. Formaldehyd)		30	cem
Aqua camphorata (1 T. camphora, 2 T.			
Alkohol, 197 T. Wasser; filtrieren)		150	„
Aqua destillata		420	„
Eisessig		4	„

Sind die Fäzes fein aufgeschwemmt, so werden sie durch ein feinmaschiges Metall- oder Gazefilter in einen Scheidetrichter filtriert, die Flüssigkeit nun mit 15 cem Aether kräftig geschüttelt. Beim Stehenlassen der Mischung setzt sich der mit Aether imprägnierte Detritus in der oberen Schicht ab, während die untere Schicht abgelassen und 3 Min. mit mäßiger Geschwindigkeit zentrifugiert wird. Vom Sediment, das man bequem mit Karbolthionin Nicolle oder mit Jod-Jodkali färbt, werden dann die Präparate angefertigt.

Die Größendurchmesser der Zysten wurden bestimmt an nicht verzerrten Exemplaren (Mikrometer-Okular Leitz, Objektiv Zeiss F) und die Bruchteile eines Mikrons nach oben oder unten abgerundet.

Nach Wurmeiern wurde nicht gefahndet; am häufigsten fand ich *Trichocephalus dispar*, weiter *Ascaris lumbricoides* und nur 1mal das *Ankylostomum duodenale*.

Eigene Untersuchungen.

1) Aus Niederl. Ostindien zurückgekehrte Marineunteroffiziere und Mannschaften: Die Angehörigen der Niederländischen Kriegsflotte dienen abwechselnd 2—4 Jahre in Holland und in Ostindien. Sowohl an Bord von Kriegsschiffen, wie in den Kasernen haben die Unteroffiziere von den Mannschaften getrennte Wohn- und Schlafräume, Messe, Aborte usw. Die Unteroffiziere haben im allgemeinen wenig Fühlung mit der einheimischen Bevölkerung von Indien und leben auch hygienisch besser, als die jüngeren und meist unverheirateten Mannschaften, wie die für die Unteroffiziere niedrigeren Morbiditätszahlen und speziell die Geschlechtskrankheiten und Malaria beweisen.

Sobald sie in Amsterdam oder Rotterdam ausgeschifft waren, schickte ich jedem von ihnen ein Glasgefäß mit Spatel in einer Holzschachtel und erklärte in einem beigegebenen Schreiben kurz den Zweck meiner Forschung und bat um ihre Mitwirkung durch Zusendung des Stuhles.

Auf 669 Anfragen erhielt ich 469 Stuhlproben, d. h. + 70 Proz. Die Untersuchungsergebnisse zeigen Tabelle IV und V, wozu noch folgendes bemerkt sei:

Tabelle IV.

Monat der Heimkehr aus Ost-Indien	Dezember 1925	Januar 1926	Februar 1926	März 1926	April 1926	Mai 1926	Juni 1926	Juli 1926	August 1926	September 1926	Oktober 1926	November 1926	Dezember 1926	Januar 1927	Februar 1927	März 1927	Total
Zahl der untersuchten Personen	29	45	28	40	14	41	63	37	7	19	4	53	19	19	10	41	469
<i>E. histolytica</i>	5	4	1	3	—	1	8	5	—	2	—	5	3	—	2	4	43
<i>E. coli</i>	4	4	4	6	—	2	3	8	—	4	—	7	3	1	3	1	50
<i>E. tenuis</i>	—	—	2	—	—	3	1	1	—	—	—	4	—	—	—	—	12
<i>E. nana</i>	2	8	2	7	4	2	4	9	—	2	—	6	3	—	1	12	62
Jodysten	4	2	1	2	1	2	3	3	—	2	1	6	1	—	1	1	30
<i>Lambliia</i> intest.	2	6	1	2	2	2	5	3	—	1	—	3	—	1	2	1	31
Blastozyten	5	14	10	10	4	10	15	11	2	7	1	13	3	3	3	11	122

ad Tabelle IV. Soweit mir bekannt, ist Amöbenruhr in Soerabaja, der Nederl.-Indischen Marinebasis, zur Zeit wenig intensiv. Genauere Angaben fehlen leider, doch glauben manche Aerzte, einen Saisoneinfluß bemerkt zu haben. Wenn dies richtig ist, so besteht die Möglichkeit, daß die zeitlichen Differenzen der Ruhr in Soerabaja sich durch die verschiedene Häufigkeit der Zystenträger unter den in verschiedenen Monaten heimgekehrten Leuten äußert; doch ist eine solche Differenz aus der Tabelle nicht zu ersehen (Tab. IV, S. 410).

Tabelle V.
Eigene Untersuchungsergebnisse.

	Nach 2—4jährigem Aufenthalt aus Ostindien heimgekehrte Marineangehörige				Schulschiffjungen Vlissingen		G. Heizer von Kreuzer „Java“	H. Vor kurzem eingetretene Marinerekruten	Zivilpersonen den Helder		
	A. Unteroffiziere	B. Mannschaften	C. Total	D. Küchenpersonal aus Kolonne C	E. Vor kurzem eingetreten	F. 1 Jahr nach Eintritt			I. ♂	K. ♀	L. Kinder
Zahl der untersuchten Personen	161	308	469	48	140	157	43	90	26	106	73
<i>E. histolytica</i>	5,6 %	11,0 %	9,2 %	10,4 %	3,6 %	10,2 %	11,6 %	10,0 %	2 Inf.	0,9 %	0 %
<i>E. coli</i>	9,9 „	11,0 „	10,7 „	14,6 „	27,9 „	41,4 „	37,2 „	35,6 „	7 „	28,3 „	8,2 „
<i>E. tenuis</i>	3,1 „	2,3 „	2,6 „	0 „	3,6 „	5,7 „	9,3 „	0 „	0 „	0 „	0 „
<i>E. nana</i>	9,3 „	15,3 „	13,3 „	10,4 „	24,3 „	27,4 „	20,9 „	16,7 „	6 „	17,0 „	6,8 „
Jodzysten	5,6 „	6,8 „	6,4 „	14,6 „	10,0 „	11,5 „	11,6 „	7,8 „	1 „	2,8 „	2,7 „
<i>Lamblia intest.</i>	3,7 „	8,1 „	6,6 „	6,3 „	14,3 „	16,6 „	18,6 „	4,5 „	2 „	3,8 „	17,8 „
Totaler Infektionsindex	37,4 „	54,5 „	48,6 „	56,2 „	83,6 „	112,7 „	109,3 „	74,4 „	18 „	52,8 „	35,6 „
Blastozysten	21,7 „	28,2 „	26,0 „	29,2 „	39,3 „	42,7 „	65,1 „	32,2 „	4 „	19,8 „	19,2 „

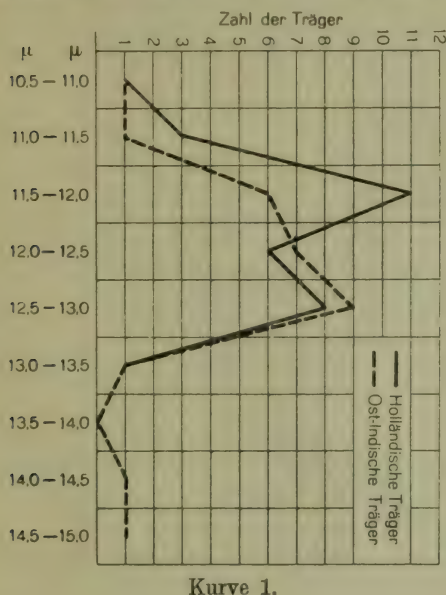
ad Tabelle V. Nach dem oben über die Lebensverhältnisse der Unteroffiziere und Mannschaften Gesagten können die relativ niedrigen Infektionszahlen der Ersteren kaum überraschen (vgl. Kolonne A und B). Auffallend sind die Differenzen für *E. histolytica* (5,6 Proz. und 11,0 Proz.), *Lamblia intestinalis* (3,7 Proz. und 8,2 Proz.) und *E. nana* (9,3 Proz. und 15,3 Proz.). Es lag nun nahe, daß vielleicht das Küchenpersonal (Köche, Stewards, Botteliere usw.) mehr durch Protozoen infiziert sein könnte, als die anderen. Ein Ueberblick der Spalten C und D läßt jedoch nur eine Vermehrung der Jodzysten erkennen, nicht aber von der *E. histolytica* und der *Lamblia intestinalis*.

2) Schulschiffjungen in Vlissingen. Auf dem Schulschiff „Noordbrabant“ in Vlissingen werden 17—25jährige (Freiwillige) zu Matrosen ausgebildet. Die Zöglinge stammen von Arbeitern-, bzw. den sozial niedrigeren Ständen. Ich untersuchte 140 Stuhlproben von kürzlich in den Dienst eingetretenen Jungen und 157 von Leuten nach 1jähriger Ausbildungszeit (Tabelle V, E u. F). Dem Anschein nach wird also die Häufigkeit der Darminfektionen durch das gedrängte Zusammenwohnen auf einem Schiff gefördert, und zwar besonders für *E. histolytica*.

3) Heizer des Kreuzers „Java“. Im Oktober 1925 reisten mit dem Kreuzer „Java“ 43 Heizer nach Ostindien ab, woher sie nach kurzer Zeit auf einen Maildampfer zurückkehrten. Ihr Aufenthalt in subtropischen und tropischen Gegenden betrug rund 5 Monate, davon in Algier 6 Tage, Portsaid 3 Tage, Colombo 8 Tage, Nederl. Ostindien 6 Wochen. Diese Heizer stehen ungefähr in demselben Alter, wie die Matrosen und sind ebenso wie diese auf einem

Schulschiff („van Speyk“) ausgebildet. Es zeigt sich nun, daß der kurze Tropenaufenthalt ihrer Darmfauna kein tropisches Gepräge verliehen hat; die Prozentzahlen der verschiedenen Protozoenarten haben größere Ähnlichkeit mit denen der älteren Vlissinger Matrosen, als mit der der nach 2—4 Jahre aus Ostindien heimgekehrten Mannschaften (Tab. V, G, vgl. mit B und F, bes. *E. coli*, *E. tenuis*, *Lamblia*).

4) Marinerekruten im Helder. Aus den zum Militärdienst verpflichteten 20jährigen Leuten werden, wegen der relativ kurzen Bildungszeit für einen technisch schwierigen Beruf, für den Seediensolche aus einem sozial höheren Milieu gewählt, als aus dem, von dem die Matrosen und Stocker stammen. Im März 1927 untersuchte ich 90 Stuhlproben innerhalb einer Woche nach dem Eintritt der Rekruten in den Dienst und verzeichnete dabei die Berufe der betreffenden Personen: Kontrollbeamter (43), Studenten (5), Lehrer (4), weiter Apotheker-Assistent, Mechaniker, Monteur, Marconist, Telegraphist usw., ja selbst Hotelbesitzer, Fabrikant und Rentner.



Kurve 1.

Wie Tabelle V E. einen Einblick gestattet in die Protozoenverbreitung bei den niederen Ständen der Niederlande, kann die Darmfauna der Marinerekruten (Tab. V, H) als die der Zivilpersonen aus höheren sozialen Schichten betrachtet werden.

5) Zivilpersonen im Helder. Das Stuhlmaterial stammte ausschließlich aus dem Helder, der Niederländischen Marinebasis, welche in den Städten Hollands relativ wohl am meisten mit den Tropen Kontakt hat. Die Proben wurden mir zum Teil von der Zivilabteilung des Marinelazarets, zum Teil von praktizierenden Aerzten zugeschickt. Soweit ihre niedrige Zahl eine Schlußfolgerung gestattet, ist zu sehen (Tab. V, I, K, L):

- daß die Kinder im allgemeinen wenig Protozoen haben, mit Ausnahme der sehr verbreiteten *Lamblia intestinalis*;
- daß Männer anscheinend ziemlich stark mit *E. histolytica* infiziert sind, Frauen und Kinder aber fast nicht.

Morphologische Bemerkungen.

Rodenhuis (20) fand, daß die *E. histolytica*-Zysten tropischer Herkunft im Durchschnitt etwa 1 μ größer waren als die holländischen. Diese Angabe habe ich einer Nachprüfung unterzogen. Tabelle VI zeigt die Messungsergebnisse der Zysten bei sicher einheimischen (30 Träger der Sub 2^o—5^o genannten Personen) und wahrscheinlich tropischen Ursprungs (27 Träger der Personen sub 1^o). Nur reife, 4kernige Zysten wurden gemessen, und zwar 7mal in Jod-Jodkali-, 50mal in Sammelpreparaten.

Ich fand tropische Zysten durchschnittlich 0,4 μ mehr als einheimische; außerdem wurden unter den ersteren auch die größeren Exemplare angetroffen, bis zu 18 μ . Trägt man die 57 Zystenserien in 2 Frequenzkurven ein, mit Durch-

Tabelle VI.
Größe der *E. histolytica*-Zysten mit Frequenzkurve.

Sicher einheimische Infektionen					Wahrscheinlich tropische Infektionen.				
Protokoll Nr.	Zahl der gemessenen Zysten	Große Schwankung	arithmetische durchschnittl. Größe	Bemerkungen	Protokoll Nr.	Zahl der gemessenen Zysten	Große Schwankung	arithmetische durchschnittl. Größe	Bemerkungen
H. 66	100	10—14	11,52		I. 15	100	9—15	11,71	
„ —	100	10—14	12,18		„ 18	50	10—14	12,22	{ 4 Mon. später dauernd zystenfrei
„ —	200	10—14	11,81		„ 50	100	11—15	12,96	
V. 171	100	10—14	11,71		„ 87	100	9—14	11,96	
„ 185	50	10—15	12,04		„ 100	100	11—17	14,26	{ 1 Mon. später dauernd zystenfrei
„ 20	100	10—15	12,53		„ 37a	100	11—15	12,67	
„ 26	50	10—15	12,74		„ 150	100	10—18	13,38	
„ 14	100	10—14	11,46		„ 178	50	10—13	10,90	
„ 15	100	10—14	11,68		„ 181	50	11—15	12,80	
„ 43	100	11—14	12,57		„ 249	100	9—15	11,81	
„ 73	100	10—14	11,91		„ 263	100	11—15	12,94	
„ 74	50	10—15	12,72		„ 290	100	11—15	12,87	
„ 133	100	9—14	11,46		„ 295	100	11—16	12,94	{ 3 Mon. später eine deutlich 2-gipfl. Kurve
„ 135	100	9—15	11,80		„ 296	50	11—14	12,40	
„ 137	100	10—14	11,57		„ 307	50	13—18	14,70	{ 2 Mon. später dauernd zystenfrei
„ 282	100	10—14	11,81		„ 322	100	10—15	12,27	
„ 212	100	10—15	12,10		„ 325	100	10—15	12,75	
„ 251	50	10—14	11,90		„ 352	100	10—15	12,42	
M. 4	50	11—15	13,22		„ 356	100	10—14	12,01	
„ 14	100	10—15	12,07		„ 357	100	10—16	12,59	
„ 27	50	11—15	12,36		„ 388	100	9—15	11,92	
„ 30	100	10—14	12,08		„ 413	50	10—15	12,46	
„ 31	50	11—15	12,76		„ 416	100	9—14	11,58	
„ 50	100	11—16	15,64		„ 413a	200	10—15	12,57	
„ 69	100	10—15	11,75		„ 431	50	10—15	11,54	
„ 70	50	9—13	11,14		„ 476	50	10—16	12,16	
„ 73	100	10—14	11,81		„ 486	100	9—14	11,43	
R. 28	50 100	11—15	12,60		„ 33	nicht gemessen			{ 2 Mon. später dauernd zystenfrei
„ 29		10—16	12,73						
„ 32	50	8—13	10,82	unbedingt eingipflige Kurve					
Durchschnittliche Größe 30 Träger: 12,04 μ					Durchschnittliche Größe 27 Träger: 12,45 μ				

schnittsdifferenzen von $\frac{1}{2} \mu$, so fällt der „einheimische“ Gipfel auf 11,5—12,0 μ , der „tropische“ auf 12,5—13,0 μ . (Differenz 1 μ , vgl. Kurve).

Das von manchen Autoren angegebene Merkmal der tropischen Zysten, nämlich ihre Infektiosität u. a. für Katzen, welche Eigenschaft den nicht-tropischen fehlen soll, konnte ich leider nicht eingehend nachprüfen. Im Jahre 1927 fütterte ich 8 sehr junge Katzen 2 Wochen lang mit einheimischen Zysten von 4 verschiedenen Trägern, von denen aber keine darmkrank wurde.

Ueber die anderen Zystenarten sei nur folgendes erwähnt:

Einmal sah ich Zysten, die wegen ihrer Größe, 16—18 μ , ihrer zentral gelagerten 8 Kerne und ihrer dicken Zystenwand als *E. coli*-Zysten angesprochen werden mußten, obwohl sie fast alle mächtige, für *E. histolytica* typische Chromidialbalken zeigten.

In vereinzeltten Fällen fanden sich Jodzysten mit 2, ja selbst mit 3 und 4 deutlich getrennten Glykogenvakuolen.

Bei nahezu allen *Lambliä*-Zystenträgern waren bald nur wenige, bald sehr viel kleine, geschrumpfte Exemplare anzutreffen (10—6 μ); im Jod-Jodkalipräparat waren sie dunkelbraun mit verschwommener Zeichnung; ihre Wand färbte sich oft blau, manchmal aber war nur eine blaue, leere Schale zu sehen. Dobell und O'Connor (8), welche diese Formen schon beschrieben hatten, deuteten sie als mögliche Degenerationerscheinung (*Amylum* in der Zystenwand?).

Es gelang mir leider nicht, einwandfrei *Chilomastix Mesnili* zu diagnostizieren, obwohl selbstverständlich sehr intensiv nach diesem Flagellaten gefahndet wurde. Inwieweit die von mir angewandte Untersuchungstechnik dafür verantwortlich gemacht werden kann, vermag ich nicht anzugeben. Weil aber auch Herr Prof. Schüffner mir mitteilte, in den letzten Zeiten in Amsterdam keine *Ch. M.* mehr gesehen zu haben, glaube ich annehmen zu dürfen, daß dieses Protozoon in Holland in der Abnahme begriffen ist; Rodenhuis (1923) fand sie in 0,4 Proz., Bijlsma (1919) in 3,5 Proz.

Brug (5) gibt an, einmal Blastozysten gesehen zu haben mit grasgrünem Innenkörper; ich aber fand in einer Stuhlprobe Blastozysten mit hellgrünem Innenkörper.

Schlußbemerkungen.

a) *E. histolytica*.

Aus alledem gewinnt man den Eindruck, daß die Verbreitung der *E. histolytica* in Holland nur bedingt wird durch den Grad, in dem man sich der Ansteckung aussetzt. Ohne a priori irgendeine Immunität, z. B. durch Alter oder Geschlecht, leugnen zu wollen, scheint mir doch eine solche Annahme ganz überflüssig (s. u.), und zwar um so mehr, als eine Immunität gegenüber Protozoen sehr diskutabel ist, und weil alle Tropenkliniker darüber einig sind, daß die Amöbenruhr kein Alter und kein Geschlecht verschont.

Erstens begünstigt gedrängtes Zusammenwohnen (Schulschiff Vlissingen) die Ansteckungsmöglichkeit, wie schon oben erwähnt ist. Obwohl an Bord von Kriegsschiffen eine Sauberkeit herrscht, wie man sie in den meisten Haushaltungen vergebens sucht, hat dies nicht verhütet, daß nach 1jährigem Schiffsaufenthalt die Zahl der Träger sich um das dreifache vermehrt hat.

Zweitens scheint die soziale Stellung einen gewissen Einfluß auszuüben. Die Marinerekruten (Tabelle V, H) stehen ungefähr in demselben Lebensalter wie die Jungen in Vlissingen (Tabelle V, E), stammen jedoch aus den besseren Ständen. Man könnte also annehmen, daß sie hygienischer leben. Jedoch sehen wir gerade unter diesen Rekruten den höchsten Prozentsatz an Trägern. Dies kann ich mir nur damit erklären, daß finanziell relativ kräftige, junge Männer mehr in der Lage sind, „Fäkalkontakt“ mit der Außenwelt zu haben (Kaffeehausbesuch, Reisen usw.), als Arbeiterkinder.

Die Ansteckung scheint also nicht sehr leicht durch eine landläufige hygienische Lebensweise verhütet zu werden, vielmehr ist der Kontakt mit Trägern die Hauptsache. Auch die Verhältnisse bei Frauen und Kindern können zwanglos in diese Anschauung einbezogen werden. Das diesbetr. Material stammte aus den Arbeiter-, Fischer- und Seeleutenkreisen der Helden, wo Hygiene

nicht all zu streng geübt wird. Dagegen haben die Frauen und Kinder im allgemeinen nur Fäkalkontakt im eigenem Hause, so daß unter 179 Personen nur 1 Trägerin zu finden war. Es sind daher die Männer als die Träger und Ueberträger der Infektion zu betrachten.

Versuchen wir jetzt, aus dem oben Gesagten einen Schluß zu ziehen in bezug auf die Frage, ob *E. histolytica* in Holland jetzt ein selbständiges Dasein führt, oder ob noch immer der Verkehr mit den Tropen ihre Verbreitung beeinflußt, so können wir die nachfolgenden Erwägungen einander gegenüber stellen.

Für die 1. Anschauung spricht der — von mir bestätigte — Befund von Rodenhuis, den Größendurchmesser der Zysten betreffend, die einheimischen *Histolytica*-Entamoeben mit den kleineren Dauerformen könnten eine Art Standortvariante des tropischen Parasiten darstellen. Sicherlich spricht weiter nicht dagegen, daß die aus Ostindien heimgekehrten Personen denselben Ansteckungsindex zeigen, wie die analogen Menschengruppen in Holland (vgl. Tabelle V, B, mit F und G).

Nur ist es schwer, einzusehen, warum, vorausgesetzt, daß die *E. histolytica* in Holland jetzt selbständig sich fortpflanzt, und daß ihre Ausbreitung weniger durch irgendeine Immunität, als durch die Gelegenheit zur Ansteckung bedingt wird, daß diese Verbreitung heute noch eine so ungleichmäßige ist. Diese Tatsache ist aber leichter verständlich, wenn man sich klar macht, daß manche *E. histolytica*-Infektionen nur vorübergehend bestehen und nicht alle, wie von einigen Autoren behauptet werden, lebenslang dauern. Bei Nachuntersuchungen bis zu 6 Monaten an 21 Trägern konnte ich in 4 Fällen die Zysten dauernd verschwinden sehen (Tabelle VI). Auch die Befunde an meinem Ostindischen Material konnte in demselben Sinn gedeutet werden (Tabelle V, A, B); liegt doch keine Veranlassung vor zu der Annahme, daß die von mir untersuchten Unteroffiziere vor 10—15 Jahren, solange sie also noch „Mannschaften“ waren, in verringertem Maße mit *E. histolytica* verseucht waren, als die jetzigen Matrosen. Weisen sie aber heute einen niedrigeren Infektionsindex auf, so kann dies m. E. nur dadurch erklärt werden, daß sie zystenfrei geworden sind.

Ist das Vorhandensein kurzdauernder Infektionen für die obenerwähnte ungleichmäßige Verbreitung förderlich, muß gleich hinzugefügt werden, daß dasselbe Resultat erhalten wird, wenn auch jetzt noch der Tropenimport diese Verbreitung reguliert.

Einer besonderen Erwähnung bedarf der 10proz. Infektionsindex, dem man in den meisten Untersuchungen für bestimmte Menschengruppen (Männer) begegnet. Man bekommt den Eindruck, daß unter den heutigen Verhältnissen in Holland 10 Proz. die Gleichgewichtslage darstellt zwischen ankommenden und verschwindenden Infektionen, wenn die diesbezüglichen Personen hinreichend einer Ansteckung ausgesetzt sind.

In Ostindien (Batavia), wo die Ruhr, obwohl nicht bedeutend, doch sicher mehr vorkommt, als in Holland, sind merkwürdigerweise bei darmgesunden Personen nahezu dieselben Zahlen gefunden worden [Flu (11) 1919 10,5 Proz., Brug (4) 1920 12,7 Proz.]. Allerdings sind in tropischen Gegenden auch höhere Prozente verzeichnet, doch kann dies nicht zu sehr überraschen; steigt doch während der Epidemien anderer ansteckenden Krankheiten die Zahl der gesunden Keimträger oft bedeutend.

b) *Lamblia intestinalis*.

Sowohl in Deutschland (Bach) und England (Dobell, Matthews und Malins Smith), wie in Holland (Krediet) ist festgestellt geworden, daß *Lamblia intestinalis*, welcher von einigen Autoren eine pathogene Wirkung

zugeschrieben wird, am meisten bei Kindern angetroffen wird. Matthews und Malins Smith erklären dies dadurch, daß mit dem Steigen der Jahre die Mehrzahl der Ansteckungen verschwindet, Dobell dagegen meint, daß bei Erwachsenen das Auffinden der *Lambli*a-Zysten im Stuhl außerordentlich schwierig sei und so ein verringerter Infektionsindex vorgetäuscht wird.

Außer bei Kinder fand ich an meinem Material auch einen hohen Infektionsindex bei jungen Männern. Die von mir geübte Technik kann nicht ausschließlich dafür verantwortlich gemacht werden; vielmehr ist die Sammelmethode von Bayer meiner Erfahrung nach für *Lambli*a-Zysten nicht so geeignet, wie z. B. für *Coli*-Zysten (s. o.). Es leuchtet also ein, daß, abweichend von den bisherigen Ergebnissen, *Lambli*a in den Niederlanden bei darmgesunden Personen bis weit in das Pubertätsalter in „kindlicher“ Frequenz vorkommen kann. Hierbei ist zu bemerken, daß bei den 2 Gruppen junger Männer, die ich bei der Besprechung der *E. histolytica* einander gegenüberstellte (Tabelle V, E und H), die *Lambli*a das umgekehrte Verhältnis zeigt, wie die *E. histolytica*.

Im übrigen kann ich Dobell nur beistimmen, wenn er sagt, daß *Lambli*a-Infektionen besonders hartnäckig seien; bei Nachuntersuchungen an manchen Trägern sah auch ich niemals die Zysten dauernd verschwinden, wie es die *E. histolytica* wohl tut.

Literatur-Verzeichnis.

- 1) Bach, Arch. f. Schiff- u. Tropenhyg. Bd. 28. 1924. — 2) Ders., Ebenda. Bd. 29. 1925.
- 3) Bach u. Kiefer, Ebenda. Bd. 27. 1923. — 4) Brug, Geneesk. Tijdschr. v. Ned.-Indië 1920. — 5) Ders., De parasitologische Diagnostiek van de menschelyke faeces. 1922. — 6) Bijlsma, Onderzoek naar het voorkomen van darmprotozoen bij Nederlanders. [Inaug. diss.] 1919. — 7) Dobell, Med. Research Council. Spec. Report Series No. 59. 1921. — 8) Dobell a. O'Connor, The intestinal protozoa of man. 1921. — 9) Fischer, Berl. klin. Wochenschr. 1920. — 10) Ders., Centralbl. f. allg. Path. u. path. Anat. 1921. — 11) Flu, Geneesk. Tijdschr. v. Ned.-Indië. 1918. — 12) Hage, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 88. 1922. — 13) Hetzer, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 77. 1914. — 14) Jung u. Sell, Münch. med. Wochenschr. 1921. — 15) Krediet, Over het voorkomen van protozoenkysten ien ontwikkelingsvormen van Coccidien in den darm van mensch en enkele dieren. [Inaug. diss.] 1921. — 16) Matthews a. Malins Smith, Ann. of Trop. Med. & Parasitology. Vol. 10—13. 1916—1919. — 17) Ravaut et Krolunitsky, Presse méd. 1917 (zit. bei Dobell). — 18) Rodenhuis, Handleiding bij het onderzoek naar protozoen in de menschelijke faeces voorkomend. 1921. — 19) Ders., Verslag van een onderzoek, ingesteld bij verpleegden van het Gemeente-Ziekenhuis te 's Gravenhage. 1923. — 20) Ders., Over het bestaan van verschillende rassen binnen de soort *Entamoeba histolytica* Schaudinn. [Inaug.-Diss. 1924.]

Nachdruck verboten.

Ueber die Stellung der Ratinbakterien und anderer Rattenschädlinge zur „Gärtner-Gruppe“.

[Aus der Lehrkanzel für Bakteriologie der Tierärztlichen Hochschule in Wien
(Vorstand: Prof. Dr. Josef Schnürer).]

Von Dozent Dr. **Hans David.**

Mit 4 Abbildungen im Text.

Seit der Entdeckung des *Bact. typhi murium* durch Loeffler (1890) und des *Bact. spermophilorum* durch Mereshkowsky war man bestrebt, ähnliche Seuchenerreger auch für Ratten zu finden, weil diese genannten Mikroorganismen nur zur Mäusetilgung, aber nicht zur Bekämpfung der Rattenplage verwendbar waren.

Danysz war der erste, welcher einen für Ratten pathogenen Erreger gefunden hatte. Dieser beobachtete (1900) eine Epidemie unter Wald- und Feldmäusen und züchtete aus den gestorbenen Tieren ein Bakterium, das sich anfänglich nur für Mäuse, nach vorgenommenen Rattenpassagen, aber auch für Ratten als hochpathogen erwies. Die praktischen Versuche mit dem Bac. Danysz ergaben günstige Resultate. Einige Jahre später isolierte Issatschenko aus einer spontan gestorbenen Ratte den Bac. sept. mur., der in Rußland zur Rattentilgung große Anwendung fand.

1905 berichtete Bahr über ein neues Bakterienpräparat zur Rattentilgung, das mit einem von Neumann (Aalborg) aus dem Harn eines cystitiskranken Kindes gezüchteten Stäbchens hergestellt wird. Diesem Ratinbazillus wurde durch Rattenpassagen die ursprünglich fehlende Rattenpathogenität angezüchtet und findet heute, in Verbindung mit dem Meerzwiebelpräparat Ratinin (oder auch Ratin II) bei der Rattentilgung weitgehende Anwendung.

Rattentötende Bakterien wurden ferner von Trautmann, Schern, Dunbar, Toyama u. a. gefunden, die aber im Vergleich zu den oben angeführten Bakterien in der Praxis wenig Anwendung gefunden haben. Andere Rattentilgungspräparate, welche als wirksamen Faktor Bakterien enthalten, kommen unter verschiedenen Namen in den Handel (Rattoleum, Pestigen, Rattapan, Morratin usw.), unter welchen namentlich das in England hergestellte „Liverpoolvirus“ zur Rattentilgung vielfach verwendet wird. Diese zur Rattentilgung verwendeten Bakterien sind schon oft Gegenstand eingehender Untersuchungen hinsichtlich ihrer Stellung im Bakteriensystem gewesen, die zu dem Ergebnis führten, daß der Ratinbazillus, die Bac. Danysz, Issatschenko, Mereshkowsky, Dunbar, Trautmann, das Liverpoolvirus, kurz: die Gruppe der Rattenschädlinge oder die Ratingruppe, morphologisch, kulturell und serologisch weder untereinander noch vom echten Bac. enteritidis Gärtner zu unterscheiden wären [Trautmann (1906), Xyländer (1909), Mühlens, Dahm und Fürst (1909), Lebram (1909), Hurler (1912), Steffenhagen (1911), Uhlenhuth (1921), Savage und White (1927), Ebert (1925) u. a. m.]

Demgegenüber stehen die Ansichten von Bahr, Raebiger und Grosso (1910) und von Bahr in verschiedenen Arbeiten, daß die Ratinbakterien und andere Rattenschädlinge, z. B. Ratti-, Dunbar-, Issatschenko-, Danysz-Bazillen vom echten Bac. enteritidis Gärtner in biologischer Beziehung Verschiedenheiten aufweisen, die u. a. in dem verschiedenen Wachstum auf Gelatine (Gärtner: trocken, Rattenschädlinge: feucht) und in dem Unvermögen der Gärtner-Bakterien, zuckersaures und schleimsaures Ammoniak, im Gegensatz zu den Rattenschädlingen, benützen zu können, bestehen. Sobernheim und Seligmann stellten bereits 1910 mittels der direkten Agglutination fest, daß unter den von ihnen geprüften 29 Gärtner-Stämmen (davon 9 Rattenstämmen) Varietäten vorkommen, die sich durch wohlcharakterisierte biologische Merkmale voneinander unterscheiden, und daß „in der Gärtner-Gruppe möglicherweise die „Rattengruppe“, zu der die Rattenschädlinge und eine Reihe von Fleischvergiftungen zählen, eine Sonderstellung einnimmt.“ Diese Vermutung konnten Sobernheim und Seligmann an 3 Vertretern der Rattengruppe (2 aus einer Fleischvergiftungs-epidemie 13^a und Enteritis Spickgans und „Rattenseuche Schern“) mit Hilfe der Komplement-bindungsreaktion beweisen.

In Hinblick auf diese widersprechenden Angaben, war es von Interesse den Nachweis zu versuchen, ob eine Abtrennung der „Ratingruppe“ von der Gärtner-Gruppe mit Hilfe der neueren Differenzierungsmethoden möglich ist.

Eigene Untersuchungen.

Zur Verfügung standen uns 9 verschiedene Stämme rattentötender Bakterien und zur Kontrolle 13 als „Bac. enteritidis Gärtner“ bezeichnete Kulturen. (Die namentliche Anführung der Stämme erfolgt in Tabelle I.) Außerdem wurden zum Vergleiche jeweils verschiedene Schottmüller-, Breslau- und Typhi mur.-Stämme herangezogen.

Morphologisch bestehen zwischen keinem der untersuchten Stämme Unterschiede; es handelt sich durchweg um peritrich begeißelte, bewegliche, gram-negative, sporenlose Kurzstäbchen. Vollkommen gleich verhalten sich auch die Stämme in den Barsiekow-Lösungen I (Traubenzuckernutrose) und II (Milchzuckernutrose) und in der Hetsch-Lösung (Mannitnutrose): (Rötung mit Gerinnung, unverändert, Rötung mit Gerinnung), ferner in Milch (keine Gerinnung, mit später eintretender Aufhellung) und in der Chinablaumolke (Bläuung, mit späterer Aufhellung). Indol wird von keinem der Stämme gebildet, Schwefelwasserstoff dagegen reichlich. Außerdem wurden zur Prüfung der Stämme neben allen gebräuchlichen Differenzierungsnährboden auch die

Rhamnosemolke nach Bitter, Weigmann und Habs herangezogen und ferner eine Arabinose (1proz.) nutrosehaltige Nährlösung (nach Art der Barsiekow-Lösungen) verwendet. Die Rhamnosemolke wurde genau nach den Originalangaben hergestellt und die beimpften Röhrchen nach 15—18 Std. Bebrütung mit 2 Tropfen einer $\frac{1}{2}$ proz. Methylrotlösung in 90proz. Alkohol geprüft. (Schottmüller: gelb, Breslau: rot).

Die Arabinose-Nutrosehaltige Nährlösung wurde deshalb hergestellt, weil über die Arabinosevergärung durch Gärtner-Bakterien widersprechende Angaben vorliegen.

Bahr, Raebiger und Grosso haben seinerzeit darauf hingewiesen, daß der Ratinbazillus im Gegensatz zum Bact. enteritidis Gärtner Arabinose unter Säure- und Gasbildung vergärt, was von Xylander bestritten wurde. Fast durchweg wird angegeben, daß die Gärtner-Bakterien Arabinosevergärer sind, obwohl es auch nicht an gegenteiligen Ansichten fehlt. Aus den Untersuchungen von Stieckdorn (1915) über die Erreger der Kälberkrankheiten geht z. B. hervor, daß von 13 Gärtner-Stämmen nur 2 aus Arabinose Gas gebildet hatten; Ruge (1923) fand unter zahlreichen Gärtner-Stämmen von Menschen keinen einzigen, der Arabinose gespalten hätte.

Tabelle I.

Nr.	Kultur	Herkunft	Schleimwall	Rhamnosemolke	Arabinose-Nutrose	
1	B. enterit. Gärt.	Reichsges.amt Berlin	+	gelb	unveränd.	Gruppe I
2	„ Kiel	Laborat.stamm	+	„	„	
3	„ 22	„	+	„	„	
4	„ 27	„	+	„	„	
5	„ 32	„	±	„	„	
6	„ 56	„	+	„	„	
7	„ 106	„	+	„	„	
8	„ 654	„	+	„	„	
9	„ 1984	Vet. amtl. Unters.st. d. Gem. Wien	+	„	„	
10	„ Ruß	Volksgesh.amt Wien	+	„	„	
11	Gärt. Brügge	Labor.	bei keinem Stamme typische Schleimwälle. Hier und da sind diese durch radiäre Randstreifen angedeutet.	rot	Rötung m. Gerinn. dgl.	Gruppe II
12	„ Greifswald	wie 10		„	„	
13	„ Wien	wie 10		„	„	
14	Ratin	aus Orig.flasche gez.	bei keinem Stamme typische Schleimwälle. Hier und da sind diese durch radiäre Randstreifen angedeutet.	rot	Rötung m. Gerinn. dgl.	Gruppe III
15	Ratin ³² / ₁₁	6. Mäusepassage (Feldmans)		„	„	
16	Liverpoolvirus	aus Orig.dose 1922 gez.		„	„	
17	Bac. Danysz (I)	Kral		„	„	
18	„ „ (II)	landw.-chem. Vers.-Anst. Wien		„	„	
19	Morratin	Kral		orange	„	
20	Bac. Issatschenko	„		orange	„	
11	„ ratti Kornauth	„		rot	„	
22	Rattenb. Graz	Labor.		„	„	
23	„ Pribram	„		„	„	
	Paratyph. B Schottmüller	verschiedene Laborat.st.	+	gelb	Rötung m. Gerinn.	
	Bact. Breslau	dgl.	—	rot	dgl.	
	Bact.typhi mur. (Löffler)	„	—	„	„	

Das Verhalten der einzelnen Stämme, wie wir es gefunden haben, ist der Tabelle zu entnehmen, wozu bemerkt wird, daß die Reaktionen auch nach wiederholter Anstellung der Proben stets gleich waren. Hin und wieder war zu beobachten, daß die Arabinosevergärung etwas verspätet eintritt (48 Std.). Bei den als Arabinose-Nichtvergärer bezeichneten Stämmen ist mitunter eine geringe Rötung, niemals aber (auch nach einer Woche nicht) eine Gerinnung der Nährlösung festgestellt worden. Die Schleimwallprüfung wurde auf Gassner- und Endo-Platten vorgenommen (siehe Tab. I, S. 418).

Wie diese Tabelle zeigt, war bei fast allen arabinosenegativen Stämmen eine deutliche Schleimwallbildung wahrzunehmen, bei den arabinosevergärenden Rattenstämmen dagegen nicht. Trotzdem es sich vielfach um alte Laboratoriumsstämme handelt, könnten die auffallenden Unterschiede in dem Verhalten der einzelnen Stämme in der Rhamnosemolke eine Bestätigung der Beurteilung der Schleimwallbildung sein. (Schleimwallbildende Gärtner-Stämme: gelb, walllose Gärtner- und Rattenstämmen: rot.)

Wie später begründet werden wird, können zwecks Raumersparung die arabinosenegativen Gärtner-Stämme, ebenso die Rattenschädlinge zu je einer Gruppe (I und III) zusammengefaßt werden, während die arabinosepositiven Gärtner-Stämme (Gruppe II) jeder für sich, eingehender besprochen werden müssen.

Um einen Ueberblick über die Zugehörigkeit der einzelnen Stämme zu erhalten, wurden diese zuerst direkt auf ihre Agglutinabilität in Gärtner- bzw. Ratinserum geprüft. Die Agglutinationsproben wurden nach der bei uns üblichen Methode mit fallenden Serummengen und gleichbleibenden Testmengen (2 ccm) angestellt. Die Proben wurden zuerst nach 2stünd. Aufenthalt in der Brutkammer und ein zweitesmal nach 24stünd. Belassen bei Zimmertemperatur mit Hilfe einer Lupe (Reichert Okular Nr. 4, nach Entfernung der Okularlinse) bei künstlichem Licht nach Titer, Trübung der über dem agglutinierten Bodensatz stehenden Flüssigkeit, bezüglich des Flockungsbildes (grob- und feinflockig) und nach der Zeit des Eintrittes der Agglutination beurteilt. Als Testflüssigkeit wurden stets mit physiolog. Kochsalzlösung abgeschwemmte 24—48stünd. Schrägagarkulturen (Pferdefleischagar, $pH = 7,4$) verwendet, welche nach Bedarf außerdem noch durch Papierfilter filtriert wurde. Wenn nicht besonders angegeben, bestand die Testflüssigkeit stets aus entsprechend verdünnten (Druckschrift in der Durchsicht noch leserlich) Aufschwemmungen von lebenden Bakterien.

Die Castellanischen Absättigungsversuche wurden nach den Angaben von Manteufel und Beger, Seiffert usw. angestellt. 24—48stünd. Schrägagarkulturen werden nach Prüfung auf Reinheit mit 1 ccm physiolog. Kochsalzlösung abgeschwemmt und in Spitzröhrchen 30 Min. hindurch scharf aus-zentrifugiert. Die über dem Rückstand stehende Flüssigkeit wird abgegossen, die letzten Flüssigkeitsreste mit Filterpapier vom Zentrifugat abgesaugt, der Rückstand mit 1 ccm Antiserum (1:100) pro Kultur versetzt und kräftig durchmischt. Diese Röhrchen bleiben 2 Std. bei 37° und weitere 24 Std. bei Zimmertemperatur. Nach abermaligem kräftigen Zentrifugieren wird die überstehende Flüssigkeit ausgewertet. Die gleichzeitig mit den Absättigungsversuchen notwendige Auswertung des nicht abgesättigten Serums wurde mit gleichfalls am Vortage 1:100 verdünntem, 2 Std. bei 37° und 24 Std. bei Zimmertemperatur belassenem Antiserum vorgenommen.

An Sera standen uns zur Verfügung:

- I. Ein selbst bei Kaninchen hergestelltes Serum aus Stamm: B. ent. Gärt. vom Reichsgesundheitsamt (Berlin) = Serum Nr. 1 (Tit. 1:100000).

- II. Ein selbsthergestelltes Serum aus Stamm: Gärtner Brügge (1:80000).
- III. Gärtner-Serum, bezogen vom Reichsgesundheitsamt Berlin (1:20000). (Die erhaltene Menge reichte aber nur für die Anstellung der direkten Agglutinationen hin).
- IV. Gärtner-Serum, bezogen von den Behring-Werken (1:30000).
- V. Ein selbsthergestelltes Ratinserum (1:100000) vom verwendeten Ratinstamm.
- VI. Außerdem selbsthergestellte Schottmüller-, Breslau- und Typhi mur.-Sera, welche ebenfalls einen Titer von durchschnittlich 1:80000 besaßen.

Es dürfte die an unserer Lehrkanzel übliche Antiserumherstellung erwähnenswert sein (Dr. Agnesy). Kaninchen werden stets mit lebenden Bakterien vorbehandelt und erhalten von $\frac{1}{20}$ Oese beginnend in steigenden Dosen mit 1wöchigen Pausen bis 3 Oesen lebender Bakterien intravenös einverleibt. Nach Vornahme einer Probeblutentnahme werden bei befriedigendem Titer des Serums den Kaninchen in Aethernarkose mit einer Behringschen Venüle bis 20 cem Blut durch Herzpunktion entnommen und hernach den Tieren sofort 10—15 cem phys. Kochsalzlösung intravenös nachgespritzt. Im Bedarfsfalle kann 3—4 Wochen nach der Blutentnahme die Weiterbehandlung der Serumtiere fortgesetzt werden. Wir verfügen über Kaninchen, welche innerhalb eines Jahres 5 große Blutentnahmen ohne Schädigung mitgemacht haben.

Durch die direkte Agglutination der Gärtner-Stämme (Gruppe I) mit Gärtner-Serum Nr. 1 und mit aus dem vom R.G.A. bezogenen Serum waren keine Unterschiede zwischen den einzelnen Stämmen festzustellen; alle werden grob- und feinflockig agglutiniert, der Endtiter der Sera wurde gleichmäßig erreicht. Das gleiche Bild zeigten die „Rattenstämme“ (Gruppe III), ausgenommen Bac. Danysz (I) und Bac. ratti Kornauth nach Agglutination in Ratinserum, so daß eine Unterscheidung einzelner Stämme, von dem uns als Typus geltendem Ratinbakterium nicht möglich gewesen ist. Auch diese Stämme werden grob- und feinflockig bis zum Endtiter des Serums agglutiniert.

Die Stämme Bac. Danysz (I) und Bac. ratti Kornauth wurden in Ratinserum ganz unwesentlich agglutiniert, so daß eine unspezifische Mitagglutination vermutet wurde. Die Prüfung beider Stämme in hochwertigem Breslauerum ergab eine positive grobflockige Agglutination bis zum Endtiter des Serums. Diese beiden Stämme gehören demnach nicht in die Gruppe der Rattenschädlinge, sondern sind ebenso wie das Bact. typhi mur. (Loeffler) in die Enterit. Breslaugruppe einzureihen, wovon ich mich durch zahlreiche Absättigungsversuche überzeugen konnte. Von der Gruppe III sind hiermit die Stämme Danysz (I) und Kornauth auszuschließen und werden daher in den folgenden Ausführungen nicht mehr behandelt.

Die kreuzweise ausgeführten Proben, also die einzelnen Gärtner-Stämme der Gruppe I, geprüft mit Ratinserum, und die Rattenstämme, agglutiniert in Gärtner-Serum (Serum Nr. 1 und Serum R.G.A.), ergaben fast stets Unterschiede in den erreichten Endwerten. Es wäre aber gewagt gewesen, daraus etwaige Schlüsse zu ziehen, weil dieselben Unterschiede auch innerhalb der Gärtner-Gruppe beobachtet werden konnten. Die Behauptung der verschiedenen Autoren, daß es unmöglich ist, mit der direkten Agglutination Unterschiede zwischen dem Bact. enteritidis Gärtner und den Rattenschädlingen feststellen zu können, besteht mithin vollkommen zu Recht.

Daß aber doch Unterschiede zwischen diesen beiden Gruppen bestehen, konnte mit Hilfe von mehr als 1000 Absättigungsversuchen nachgewiesen werden.

Aus verschiedenen Absättigungsversuchen war vorerst zu ersehen, daß das selbsthergestellte Serum Nr. 1 mit jedem einzelnen grob- und feinflockig agglutinierenden Gärtner-Stamm der Gruppe I für alle anderen Gärtner-Stämme der Gruppe I vollständig abzusättigen ist.

Ebenso sättigt jeder einzelne grobflockige Rattenstamm Ratinserum für alle anderen Stämme der Gruppe III restlos ab.

Aus diesen Versuchen konnte daher vermutet werden, daß die einzelnen Stämme der Gruppe I einerseits und die verschiedenen Rattenstämme (Gruppe III) andererseits, rein praktisch genommen, untereinander identisch sind, obwohl für den bindenden Identitätsbeweis von jedem der untersuchten Stämme der verschiedenen Gruppen ein Antiserum herzustellen gewesen wäre und jedes Serum mit jedem Stamm abgesättigt hätte werden müssen.

Das mit einem Gärtner-Stamm abgesättigte Gärtner-Serum verliert aber nicht nur die Agglutinine für die Gärtner-Stämme, sondern auch die für sämtliche Rattenstämme. Umgekehrt werden Gärtner-Stämme in Ratinserum nicht agglutiniert, welches mit Rattenstämmen abgesättigt worden ist. Die homologen Stämme absorbieren demnach sämtliche Agglutinine des Serums.

Wurde aber Ratinserum mit Gärtner-Stämmen der Gruppe I vorerst abgesättigt und hernach auf den Agglutiningehalt geprüft, so wurde jeder der einzelnen Rattenstämme fast bis zum Endtiter des Serums grobflockig agglutiniert, während es für Gärtner-Bakterien vollkommen erschöpft war. Das gleiche war zu beobachten, wenn Gärtner-Serum mit einem Rattenstamm abgesättigt worden war. Ratinbakterien und jeder anderer Rattenstamm entziehen dem Gärtner-Serum nur die eigenen Agglutinine, nicht aber die Agglutinine für Gärtner-Bakterien (Gruppe I), von denen jeder Stamm in solchem Serum fast bis zum Endtiter grobflockig agglutiniert wird (s. Tab. III/IV)

Diese Ergebnisse konnten aber nur dann erhalten werden, wenn für die Absättigungsversuche das selbsthergestellte Serum Nr. 1 verwendet worden war (das bezogene Gärtner-Serum R.G.A. reichte für solche Versuche nicht aus).

Bei Anwendung des Gärtner-Serum (Behring) konnten bereits Unterschiede in den Ergebnissen bei der direkten Agglutination festgestellt werden, als sämtliche Stämme in diesem Serum nur feinflockig agglutiniert wurden und der Endtiter des Serums bedeutend später erreicht wurde als im Serum Nr. 1.

Tabelle II.

	Gärtner-S. Nr. 1 nicht abges. (1: 80 000)		= abg. mit Gärt. R. G. A.		= abg. mit Ratin		Gärt.-S. (Behring) nicht abg. (1: 30 000)		= abg. mit Gärt. R. G. A.		= abg. mit Ratin	
	Gärt R. G. A.	Ratin	Gärt. R. G. A.	Ratin	Gärt. R. G. A.	Ratin	Gärt. R. G. A.	Ratin	Gärt. R. G. A.	Ratin	Gärt. R. G. A.	Ratin
500	+++gf	+++gf	0	0	++g	0	++f	++f	0	0	0	0
1 000	+++	+++	0	0	++	0	++	++	0	0	0	0
5 000	+++	+++	0	0	++	0	+	+	0	0	0	0
10 000	+++	+++	0	0	++	0	+	+	0	0	0	0
20 000	+++	+++	0	0	++	0	+	0	0	0	0	0
30 000	+++	++	0	0	++	0	+	0	0	0	0	0
60 000	+++	+	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0
80 000	++	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ohne Serum- kontrolle	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Zeichenerklärung.

+++ = komplette Agglutination, die überstehende Flüssigkeit ist klar.
++ Komplette Agglutination, ohne vollkommene Klärung.
+ = Agglutination mit der Lupe festzustellen.
g = grobflockig, f = feinflockig, gf = grob- und feinflockig.
Zwecks Raumersparung sind nur die nach 24 Std. erhaltenen Ergebnisse verzeichnet.

Durch zahlreiche Absättigungsversuche konnte nun nachgewiesen werden, daß eine Differenzierung der Ratten- und Gärtner-Stämme (Gruppe I) in Gärtner-Serum (Behring) nicht gelingt, wie dies aus vorstehendem Beispiel (S. 421) ersichtlich ist:

Diese Versuche, welche, mit verschiedenen Stämmen beider Gruppen wiederholt angestellt, stets die gleichen Ergebnisse zeigten, lassen erkennen, daß nicht jedes Serum für Absättigungsversuche gleich geeignet ist, worauf bereits Manteufel und Beger, Seiffert u. a. hingewiesen haben. Weiter ist der Tabelle II zu entnehmen, daß die Ursache der verschiedenen Flockungsbilder in diesem Falle nicht in den Bakterien (weil für sämtliche Röhren stets die gleiche Testflüssigkeit verwendet wurde und die Versuche an ein und demselben Tage angestellt worden sind), sondern im Antiserum gelegen ist.

Dem Gärtner-Serum (Behring) fehlten, im Gegensatz zu dem selbsthergestellten Gärtner-Serum Nr. 1 die den grobflockenden Rezeptoren entsprechenden Agglutinine. Zur Begründung dieser Ansicht ist es notwendig, die von Weil und Felix erhobenen Befunde über den Doppeltypus der Rezeptoren kurz anzuführen.

Weil und Felix zerlegten die Fleckfieber-*Proteus*-Stämme in 2 Formen, und zwar in die hauchartig wachsende H-Form, und in die ohne Hauch wachsende O-Form, welche oft keine deutliche Geißelbildung zeigt. Die O-Formen erzeugen Antisera, welche nur die Fleckfieber-(X)stämme agglutinieren, und zwar kleinflockend, im Antiserum der H-Formen werden dagegen außer den H-Formen auch die O-Formen und die saprophytischen *Proteus*-Stämme, und zwar grob- und feinflockig, agglutiniert. Demgemäß besitzen die O-Formen nur einen

Ta

	Gärt.-Serum 1 (Titer 1:80 000) nicht abges.				= abg. mit Gärt. R.G.A. leb.			
	Gärt. R.G.A. lebend	Gärt. R.G.A. Alkohol	Ratin lebend	Ratin Alkohol	Gärt. R.G.A. lebend	Gärt. R.G.A. Alkohol	Ratin lebend	Ratin Alkohol
500	++++gf	++++f	++++gf	++++f	θ	θ	θ	θ
1 000	++++	++++	++++	++	θ	θ	θ	θ
5 000	++	+	++	+	θ	θ	θ	θ
10 000	++	θ	+	θ	θ	θ	θ	θ
50 000	++	θ	+	θ	θ	θ	θ	θ
80 000	+	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ
ohne Serum-kontrolle	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ

Ta

	Ratinserum (Titer 1:80 000) nicht abg.				= abg. mit Gärt. R.G.A. leb.			
	Gärt. R.G.A. lebend	Gärt. R.G.A. Alkohol	Ratin lebend	Ratin Alkohol	Gärt. R.G.A. lebend	Gärt. R.G.A. Alkohol	Ratin lebend	Ratin Alkohol
500	++++gf	++++f	++++gf	++++f	θ	θ	++++g	θ
1 000	++++	++	++++	++	θ	θ	++	θ
5 000	++	+	++++	+	θ	θ	++	θ
10 000	++	θ	++++	+	θ	θ	++	θ
50 000	++	θ	++	θ	θ	θ	+	θ
80 000	+	θ	++	θ	θ	θ	θ	θ
ohne Serum-kontrolle	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ

Um einen Ueberblick zu erhalten, wie sich die Gärtner-Bakterien der Gruppe I vom Ratinbakterium bezüglich des Rezeptorenapparates unterscheiden, wurden Versuche nach der von Weil und Felix vorgeschlagenen Methode der Rezeptorenanalyse angestellt.

Zu diesem Zwecke wurde Gärtner-Serum mit erhitzten Bakterien (2 Std. bei 100°) abgesättigt und als Testflüssigkeit ebenfalls 2 Std. auf 100° erhitzte Bakterien verwendet. Es zeigte sich jedoch, daß die erhitzten Bakterien auch in nicht abgesättigtem Serum kaum agglutiniert wurden, so daß eine weitgehende Schädigung des Rezeptorenapparates durch die Erhitzung der Bakterien angenommen werden mußte. Günstig erwies sich jedoch die Methode, durch Alkohol den labilen Rezeptor der Bakterien auszuschalten. Demnach wurden 24stünd. Schrägagarkulturen mit physiolog. Kochsalzlösung abgeschwemmt (pro Kultur 1—2 ccm) und in Spitzröhrchen scharf auszentrifugiert. Nach Entfernung der überstehenden Flüssigkeit und nach Absaugen der letzten Flüssigkeitsreste mit Filterpapier wurde der Bodensatz in 96proz. Alkohol (3 ccm pro Kultur) aufgeschwemmt und 24 Std. bei Zimmertemperatur belassen. Nach mehrmaligem Waschen dieser „Alkoholbakterien“ mit physiolog. Kochsalzlösung in der Zentrifuge, wurden diese entweder zur Absättigung von Antiserum (Alkoholbakterien von je 2 Schrägagarkulturen mit 1—1,5 ccm Antiserum 1:100) oder mit physiol. Kochsalzlösung entsprechend verdünnt als Testflüssigkeit verwendet. Ueber diese wiederholt mit verschiedenen Stämmen angestellten Versuche gibt vorstehendes Beispiel (S. 422 und 423) Auskunft.

Bei Zusammenfassung der Ergebnisse der Absättigungsversuche wird folgendes Schema erhalten:

Tabelle V.

	Gärt.-Serum 1 abges. mit:					Ratinserum abges. mit			
	Gärtner lebend	Gärtner Alkohol	Ratin lebend	Ratin Alkohol		Ratin lebend	Ratin Alkohol	Gärtner lebend	Gärtner Alkohol
Gärtner lebend	+	+	+	+	Ratin lebend	+	+	+	+
Gärtner Alkohol	+	+	+	+	Ratin Alkohol	+	+	+	+
Ratin lebend	+	+	+	+	Gärtner lebend	+	+	+	+
Ratin Alkohol	+	+	+	+	Gärtner Alkohol	+	+	+	+

+ = Agglutination vorhanden.

0 = fehlende Agglutination

Wie die Versuchsergebnisse zeigen, werden Vollbakterien im Vollimmunserum grob- und feinflockig agglutiniert, während mit Alkohol behandelte Bakterien im Vollimmunserum rein feinflockig agglutinieren; durch die Alkoholbehandlung wurden die labilen Rezeptoren der Bakterien ausgeschaltet.

Wird das Vollimmunserum mit „Alkoholbakterien“ abgesättigt, so werden trotzdem lebende Bakterien mitunter fast bis zum Endtiter des Serums, und zwar rein grobflockig agglutiniert. Daraus ergibt sich, daß die Bakterien stabile (O-) und labile (H-)Rezeptoren, und die verwendeten Immunsera diesen Rezeptoren entsprechende O- und H-Agglutinine besitzen werden.

Da mit „Gärtner-Alkoholbakterien“ abgesättigtes Ratinserum auch „Ratin-Alkoholbakterien“ nicht mehr agglutiniert und umgekehrt, Gärtner-Serum durch „Ratin-Alkoholbakterien“ auch für „Gärtner-Alkoholbakterien“ erschöpft wird, muß angenommen werden, daß die nur den O-Rezeptor besitzenden „Alkoholbakterien“ beider Bakteriengruppen nicht unterschieden

werden können oder mit anderen Worten: der stabile, kleinflockende Rezeptor der Gärtner- (I) und Ratingruppe sind identisch = Rezeptor D.

Aus dem Umstande, daß in reinem Gärtner-H-Serum oder Ratin-H-Serum lebende Ratten- bzw. Gärtner-Bakterien nahezu bis zum Endtiter des Vollimmunserums grobflockig agglutiniert werden, ist zu ersehen, daß das Uebergreifen der Agglutinationen nicht allein durch den stabilen Rezeptor D, sondern auch durch labile, grobflockende Nebenrezeptoren erfolgen muß.

Demnach dürften die Gärtner-Bakterien einen labilen grobflockenden Hauptrezeptor A, die Ratinbakterien einen labilen grobflockenden Hauptrezeptor B besitzen. Das Uebergreifen der Agglutinationen erfolgt dann außer durch den stabilen Rezeptor D durch einen der beiden Bakteriengruppen gemeinsam labilen grobflockenden Nebenrezeptor C, für welche Annahme folgendes Schema gelten kann:

Oben: den Rezeptoren entsprechende Agglutinine des Immunserums.
Unten: die Rezeptoren der Bakterien.

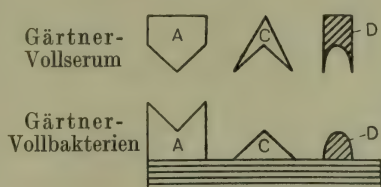


Fig. 1.

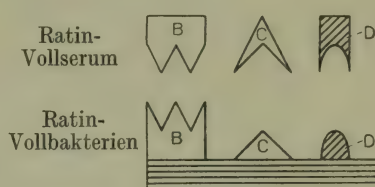


Fig. 2.

Fig. 1. Durch Absättigung mit Gärtner-Bakterien wird Gärtner-Serum vollkommen erschöpft.

Fig. 2. Durch Absättigung mit Ratinbakterien wird Ratinserum vollkommen erschöpft.

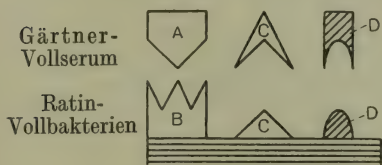


Fig. 3.

Fig. 3. Durch Absättigung mit Ratinbakterien bleibt im Gärtner-Serum der spez. Hauptrez. A erhalten, daher können Gärtner-Bakt. in diesem Serum noch agglutiniert werden.

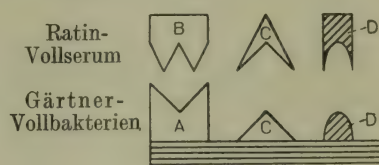


Fig. 4.

Fig. 4. Durch Absättigung mit Gärtner-Bakterien bleibt im Ratinserum der spez. Hauptrez. B erhalten, daher können in diesem Serum Ratinbakt. noch agglutiniert werden.

Da nach der Untersuchungen von Braun die labilen Rezeptoren im Zusammenhang mit dem Geißelapparat stehen dürften, so wäre vielleicht eine weitere Unterscheidung der labilen Rezeptoren durch Absättigung von reinen H-Sera mit reinen Geißelaufschwemmungen der verschiedenen Bakterien möglich, was aber derzeit praktisch noch undurchführbar ist.

Aus diesen rein theoretischen Erwägungen ergibt sich aber die praktische Folgerung, daß eine Unterscheidung der Rattenbakterien vom Bact. entetididis Gärtner nur dann möglich ist, wenn die Bakterien beider Gruppen im Besitz ihrer labilen Rezeptoren sind und die Prüfungssera die den labilen Rezeptoren entsprechenden Agglutinine besitzen. Oder: unterscheiden kann man nur grobflockende Stämme der beiden Gruppen mit grobflockenden Sera, weshalb

auch die Absättigungsversuche mit Gärtner-Serum (Behring) (s. Tab. II) zu wesentlich anderen Ergebnissen geführt haben, als die Versuche mit dem selbsthergestellten Serum Nr. 1 zeigen.

Aus den grundlegenden Arbeiten von Seiffert und seinen Mitarbeitern über die Rezeptorenanalyse geht hervor, daß die Variabilität der Rezeptoren eine wesentliche Fehlerquelle für den Ausgang eines Absättigungsversuches sein kann. Bisher vorhandene Rezeptoren können plötzlich verschwinden, umgekehrt neue auftauchen, welche Fälle ebenso wie eintretende quantitative Verschiebungen im Rezeptorenapparat genauestens verfolgt werden müssen, um folgerichtige Schlüsse aus Absättigungsversuchen ziehen zu können. Ich konnte die Wahrnehmung machen, daß trotz Verwendung bisher guter Teststämme an manchen Tagen eine mühsam vorbereitete, große Versuchsserie unverwertbar wird, weil Aenderungen im Rezeptorenapparat bei diesen Stämmen eingetreten waren. So wurde z. B. beobachtet, daß eines Tages Gärtner-Serum Nr. 1 abgesättigt mit „Gärtner-Alkoholbakterien“, also reines H-Serum, für lebende Ratinbakterien nahezu vollkommen erschöpft war. Die Vermutung, daß vielleicht die Alkoholeinwirkung auf den Gärtner-Stamm ungenügend gewesen ist, konnte dadurch widerlegt werden, daß andererseits „Ratin-Alkoholbakterien“ Gärtner-Serum für den lebenden Ratinstamm fast vollkommen abgesättigt hatten.

Die Kontrolle in nicht abgesättigtem Gärtner-Serum ergab eine rein feinflockige Agglutination der lebenden Ratinbakterien, weshalb daher der Schluß gerechtfertigt ist, daß die Ratinbakterien zu der Zeit ihre labilen Rezeptoren zumindest stark verkümmert besaßen (s. Tab. VI).

Tabelle VI.

	Gärtnerserum nicht abgesättigt				= abgesättigt mit Gärtner 654 (Alkohol)				= abgesättigt mit Ratin (Alkohol)			
	Gärtner 654 lebend	Gärtner 654 Alkohol	Ratin lebend	Ratin Alkohol	Gärtner 654 lebend	Gärt. 654 Alkohol	Ratin lebend	Ratin Alkohol	Gärtner 654 lebend	Gärt. 654 Alkohol	Ratin lebend	Ratin Alkohol
500	+++gf	+++f	+++f	++f	+++g	0	+f	0	+++g	0	+f	0
1 000	+++	++	++	+	++	0	0	0	++	0	?	0
5 000	+++	±	+	+	+	0	0	0	+	0	0	0
10 000	++	0	+	0	+	0	0	0	+	0	0	0
50 000	++	0	±	0	0	0	0	0	+	0	0	0
Kontr.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Bezeichnung wie in Tabelle II.

Gärtner- oder Ratinserum mit diesem feinflockig gewordenen Ratinstamm abgesättigt, wurden nur für diesen Stamm, nicht aber auch für andere Gärtner- und Rattenstämmen erschöpft.

Da manche Stämme im Laufe der Untersuchungen mitunter hundertmale geprüft wurden, hatte ich Gelegenheit, den Verlust der labilen Rezeptoren auch bei Gärtner-Stämmen beobachten zu können, so daß feinflockend gewordene Gärtner-Stämme Gärtner-Serum nur für sich selbst, nicht aber für andere grobflockende Stämme erschöpfen konnten. Ebenso plötzlich, wie die labilen, grobflockenden Rezeptoren verschwinden, können diese wieder in Erscheinung treten, was mitunter durch „Rastenlassen“ der Kulturen oder durch Mäusepassagen oder durch weiter Ueberimpfen der feinflockigen Stämme zu erzielen gewesen war, im allgemeinen aber dem Zufall überlassen bleiben

mußte. Ob diese Fälle vielleicht mit dem Auftreten von rauhen (R-)Stämmen im Sinne von Arkwright, Savage und White oder von unspezifischen Formen (Aoki) zusammenhängen, wurde nicht weiter untersucht. Immerhin konnte aber oftmals die Wahrnehmung gemacht werden, daß feinflockend gewordene Passagestämme nach Abschwemmung mit physiolog. Kochsalzlösung nicht die homogen erscheinende, milchig getrübe Testflüssigkeit ergaben, sondern grobe Klümpchen und Fetzen bildeten, so daß vor ihrer Verwendung die Filtration durch Papierfilter notwendig wurde.

Bezüglich der Einreihung der arabinosepositiven Stämme: „Gärtner Greifswald“ und „Wien“ konnte trotz zahlreicher Versuche keine vollkommene Klarheit geschaffen werden. Beide Stämme sind in Gärtner- und Ratinserum feinflockig agglutinierend und es gelang daher nicht, die Sera mit diesen Stämmen für grobflockig agglutinierende Gärtner- und Rattenstämme vollkommen abzusättigen. Zufälligerweise konnten bei einer Versuchsserie die nur auf diese Versuche sich beschränkende Wahrnehmung gemacht werden, daß die Stämme „Greifswald“ und „Wien“ zumindest sehr nahe Verwandte der Rattenstämme sind.

Tabelle VII.

	Gärtnerserum Nr. 1 nicht abgesättigt								
	Wien	Greifswald	Kiel	654	1984	R.G.A.	Ratin	Liverpool	Danysz
1 000	+++f(g?)	++f	++++gf	++++gf	++++gf	++++gf	++++gf	++++gf	++++gf
5 000	+++f	+	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
10 000	+	±	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++
50 000	θ	θ	+++	+++	++	++	++	+++	+
Kontr.	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ

Tabelle VII (Fortsetzung).

	= abgesättigt mit Gärtner Wien								
	Wien	Greifswald	Kiel	654	1984	R.G.A.	Ratin	Liverpool	Danysz
1 000	θ	θ	++++g	++++g	+++g	++++g	+++g	+++g	+++g
5 000	θ	θ	++	++++	++	++	+	θ	θ
10 000	θ	θ	++	++	++	++	θ	θ	θ
50 000	θ	θ	++	++	++	++	θ	θ	θ
Kontr.	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ

Tabelle VII (Fortsetzung).

	= abgesättigt mit Gärtner Greifswald								
	Wien	Greifswald	Kiel	654	1984	R.G.A.	Ratin	Liverpool	Danysz
1 000	θ	θ	++++g	++++g	++++g	+++g	+++g	+++g	+
5 000	θ	θ	++++	++	++	++	±	θ	θ
10 000	θ	θ	++	++	++	++	θ	θ	θ
50 000	θ	θ	++	++	++	+	θ	θ	θ
Kontr.	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ

Bezeichnungen wie in Tabelle II.

Aus dieser Versuchsserie ist zu ersehen daß in den abgesättigten Seris Rattenstämmen höchstens bis 1:5000, Gärtner-Stämme dagegen noch bei 1:50000 agglutiniert wurden. Die nach einigen Tagen vorgenommene gleiche Prüfung mit Ratinserum ergab keine verwertbaren Resultate, weil das Serum mit diesen Stämmen nicht abgesättigt werden konnte. Ohne daher aus diesen Versuchen einen bündigen Schluß ziehen zu wollen, um so weniger, da von den beiden Stämmen keine Antisera hergestellt worden sind, darf doch die Vermutung geäußert werden, daß die Stämme: „Gärtner Greifswald“ und „Wien“ bestimmt keine typischen Gärtner-Stämme sind, sondern eher als Rattenstämmen anzusprechen wären, wie dies auch aus ihrem biochemischen Verhalten zu ersehen ist.

Als restlicher Stamm bleibt „Gärtner Brügge“ zu besprechen. Dieser Stamm, mit den biochemischen Eigenschaften der Rattenbakterien, weist unzweifelhaft nahe Beziehungen zum Bact. ent. Gärtner auf. Wurde nämlich Gärtner-Serum Nr. 1 mit irgendeinem der Rattenstämmen abgesättigt, so blieben in diesem Serum mitunter auch einige wenige Agglutinine für den Stamm „Brügge“ erhalten (1000—5000 positiv, gegen 80000). Daß aber auch wesentliche Beziehungen zwischen dem Stamm „Brügge“ und den Rattenschädlingen bestehen, war aus einem Absättigungsversuche zu ersehen, bei welchem der Stamm „Gärtner Brügge“ dem Ratinserum nicht nur sämtliche Agglutinine für Gärtner-Bakterien entzogen hatte, sondern, im Gegensatz zu den anderen Gärtner-Stämmen (Gruppe I) auch die für Rattenbakterien absorbierte. Die Richtigkeit dieses Versuches wurde später durch die Prüfung zahlreicher Einzelkolonien bestätigt und es war daher notwendig, mit dem Stamm Brügge ein Antiserum herzustellen.

Die 1. Wahrnehmung, welche bei den Versuchen mit „Brügge-Serum“ gemacht werden konnte war, daß der in Gärtner-Serum Nr. I und Ratinserum fast stets rein kleinflockende Stamm grobflockende Agglutinine nicht nur für sich selbst, sondern auch für sämtliche Gärtner- und Rattenstämmen im Tierkörper erzeugt hatte. Die grobflockenden Rezeptoren waren mithin „verdeckt“ (Gruschka) oder latent (Seiffert) gewesen, konnten aber durch ihre Antikörper nachgewiesen werden; ein Befund, der bereits wiederholt von andern Autoren mitgeteilt wurde.

Aber auch in „Brüggenserum“ war der Wechsel zwischen grob- oder feinflockiger Agglutination des Stammes „Brügge“ oft zu beobachten, so daß nicht nur mit dem Serum Brügge, sondern hauptsächlich bei Anwendung von Gärtner- (I) oder Ratinserum viele Versuche (bei welchen das Auftreten der grobflockigen Agglutinationen direkt abgewartet werden mußte) notwendig waren, um befriedigende Resultate zu erhalten. Folgende Tabelle gibt nur ein

Ta

	Brüggenserum (Titer 1:50000) nicht abgesättigt						= abgesättigt	
	Gärtner Brügge	Kiel	1984	Ratin	Issatsch.	Danysz	Gärtner Brügge	Gärtner Kiel
500	+++gf	+++gf	+++gf	+++gf	+++gf	+++gf	++g	++g
1 000	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++
5 000	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++
10 000	++	+++	+++	+++	+++	+++	+	++
50 000	++	+++	+++	++	+++	++	0	0
Kontrolle	0	0	0	0	0	0	0	0

Rattenbakterienpräparate bereits in vielen Millionen von Litern zur Anwendung gekommen sind und alljährlich noch kommen. Die Zahl der sicher nachgewiesenen Erkrankungen bei Menschen und bei Tieren durch Rattenschädlinge steht aber zu diesen Mengen in gar keinem Verhältnis.

Wie oft sich Zwischenformen, wie der von uns untersuchte Stamm „Gärtner Brügge“, unter natürlichen Verhältnissen vorfinden, und welche Bedeutung für Menschen und Tiere ihnen zukommt, können erst weitere Untersuchungen klarstellen.

Literatur.

Uhlenhuth u. Hübener, Paratyphus usw. (Kolle-Wassermann, Handb. d. path. Mikroorg. 2. Aufl. Bd. 3. 1913.) — Bericht üb. d. 11. Tag. d. Dtsch. Vereinig. f. Mikrobiol. in Frankfurt a. M. 1925: Paratyphus. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 97. 1926.) — Untersuchungen des Hygien. Inst. der Univ. Freiburg usw. zum Paratyphusproblem. (Ztschr. f. Immunitätsf. Bd. 50. 1927.) — Aoki, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 107. 1928. S. 428. — Bahr, Ebenda. Bd. 79. 1917. S. 23. — Bahr, Raebiger u. Grosse, Ztschr. f. Inf. d. Haust. usw. Bd. 5. 1908/9. S. 295. — Bitter, Weigmann u. Habs, Münch. med. Wochenschr. 1926. S. 940. — Ebert, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 94. 1925. S. 249. — Gruschka, Ztschr. f. Immunitätsf. Bd. 35. 1923. S. 97. — Hurler, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 63. 1912. S. 341. — Lebram, Ebenda. Bd. 50. 1909. S. 315. — Manteufel u. Beger, Ebenda. Bd. 87. 1922. S. 161. — Mühlens, Dahm u. Fürst, Ebenda. Bd. 48. 1909. — Ruge, Ebenda. Bd. 90. 1923. S. 143. — Savage u. White, H. M., Stationery Office. London. 1925. — Sobernheim u. Seligmann, Ztschr. f. Immunitätsf. Bd. 6. 1920. S. 401 u. Bd. 7. 1910. S. 342. — Stickdorn, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 76. 1915. S. 250. — Trautmann, Ztschr. f. Hyg. Bd. 54. 1906. S. 104. — Uhlenhuth, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 85. 1921. S. 186. — Weil u. Felix, Ztschr. f. Immunitätsf. Bd. 29. 1920. S. 24. — Xylander, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 52. 1909. S. 455.

Nachdruck verboten.

Ueber die Nematodengattung *Oslerus* Hall, 1921 und zwei neue Arten derselben: *Oslerus cynopithecii* und *Oslerus felis*.

[Aus dem Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten zu Hamburg (Direktor: Obermed.-Rat Prof. Dr. Nocht), Helminthologische Abteilung (Vorsteher: Prof. Dr. Fülleborn).]

Von Dr. med. et phil. **Hans Vogel.**

Mit 13 Abbildungen im Text und 1 Tafel.

Als Hall (1921) die Gattung *Oslerus* aufstellte, war nur 1 Art derselben, *Oslerus osleri* (Synonyma: *Strongylus canis bronchialis* Osler, 1877, *Filaria osleri* Cobbold, 1879) aus den Luftwegen des Haushundes bekannt, eine Art, von der bisher nur unvollkommene Beschreibungen in der Literatur vorliegen. Im gleichen Jahre berichtete Travassos von 2 neuen Nematodenarten aus der Lunge südamerikanischer Halbaffen: *Oslerus barretoii* und *Oslerus gordius* und reihte sie mit Vorbehalt in das Genus *Oslerus* Hall 1921 ein¹⁾. Während Hall die Gattung *Oslerus* versuchsweise zur Oberfamilie *Spiruroidea* gestellt hat, betrachtete Travassos die von ihm gefundenen Parasiten als *Metastrongyliden* mit atrophierter Bursa. Die systematische

1) Herr Prof. Travassos teilte mir brieflich mit, daß er noch eine dritte *Oslerus*-Art beschrieben habe; leider habe ich die betreffende Arbeit bisher noch nicht erhalten können.

Stellung des Genus *Oslerus* ist also noch ungeklärt. Genauere morphologische Untersuchungen werden nötig sein, um diese Lücke auszufüllen. Die vorliegende detailliertere Beschreibung zweier neuer *Oslerus*-Arten sei ein Beitrag in diesem Sinne.

Das Genus *Oslerus*.

Hall charakterisiert die Gattung folgendermaßen:

Spiruroidea: kleine Würmer. Mundstruktur ungewiß, wahrscheinlich ohne deutliche Lippen. Männchen: 2 gelbliche Spicula von ungleicher Länge (Differenz nur gering). Hinterende stumpf gerundet oder etwas zugespitzt und leicht gebogen. Weibchen: Schwanzende abgerundet, Vulva sehr dicht vor dem Anus gelegen. Ovovivipar. Eier im Uterus ausschlüpfend. Embryonen vorn stumpf, hinten spitz endend. Sitz der einzig bekannten Art: Trachea, Bronchien und anscheinend auch das Lungengewebe des Hundes.

Typenart: *Oslerus osleri* Cobbold, 1879.

Oslerus osleri ist neuerdings von Price (1928) auch bei *Canis latrans texensis* gefunden worden. Die Angabe, daß *O. osleri* ovovivipar ist, scheint mir nach den Mitteilungen der früheren Beschreiber nicht völlig sichergestellt, möglicherweise hat Osler bei den aufgerollten Embryonen, die er in den Geburtswegen sah und abbildete, eine Eihülle übersehen, denn im Schleime eines kleinen Bronchus fand er Eier neben freien Embryonen. Rabe gibt sogar ausdrücklich an, daß der Uterus der größeren Weibchen ganz mit Embryonen angefüllt ist, „welche alle von einem sehr durchsichtigen und feinen Eihäutchen allseitig bedeckt sind“, und bildet im weiblichen Hinterende Gebilde ab, die offensichtlich Eier sind. Danach halte ich es sehr wohl für möglich, daß auch *O. osleri* ovipar ist, wie die beiden von Travassos und die beiden von mir gefundenen *Oslerus*-Arten.

Oslerus cynopithecii n. sp.

Bei der Sektion eines frisch importierten Mohrenmakaken, *Cynopithecus maurus*, fanden sich in den Bronchien zahlreiche weißliche Nematoden. Die nähere Untersuchung zeigte, daß dieselben zweifellos der Gattung *Oslerus* Hall, 1921 zugehören. Im ganzen konnten 20 unverletzte Weibchen und 10 Männchen isoliert werden. Die ganze Lunge dürfte 40—50 Würmer beherbergt haben. Der Schleim der Bronchien und der Trachea enthielt viele *Oslerus*-Eier, hingegen keine freien Larven. Im Dünndarm fanden sich ferner 7 etwas mazerierte *Oslerus*-Exemplare, die offenbar aus der Lunge ausgehustet und dann verschluckt worden waren. Das Blut des Affen enthielt keine Nematodenlarven.

Beschreibung: Beide Geschlechter besitzen eine mittelschlanke Wurmgestalt mit einer deutlichen Verjüngung nach dem Kopfe zu. Das Hinterende behält beim Weibchen bis dicht vor die äußerste Schwanzspitze fast den maximalen Körperdurchmesser und endet hier mit einem dorsalwärts gerichteten Endspitzchen. Beim Männchen ist das sich leicht verjüngende Hinterende spiralförmig aufgerollt und findet ebenfalls ein ziemlich plötzliches Ende.

Die Cuticula ist mehr oder weniger vom Körper abgehoben und in Falten gelegt. Ob die Cuticula auch im Leben diese Struktur zeigt, oder ob hier ein postmortales Kunstprodukt vorliegt, kann ich nicht entscheiden, da ich nur abgestorbene Würmer zu Gesicht bekam. Da aber Travassos bei *Oslerus barretoi* und *O. gordius* und ich bei *O. felis* die gleiche Eigentümlichkeit beobachten konnten, bin ich eher geneigt, das erstere anzunehmen.

Der Kopf trägt in beiden Geschlechtern zwei laterale dreilappige Lippen (Fig. 1 und 7). Kopfpapillen sind nicht deutlich sichtbar. Eine Mundkapsel oder ein Vestibulum sind nicht vorhanden.

Maße:

	Mittel	Minim.	Maxim.	Zahl der Messungen
Weibchen				
Gesamtlänge	14,7 mm	12,6 mm	16,3 mm	10
Größte Breite	466 μ	420 μ	550 μ	10
Kopfbreite	70 "	67 "	75 "	4
Breite in Höhe d. Oesophagusendes	308 "	270 "	370 "	4
Breite in Vulvahöhe	263 "	250 "	290 "	3
Oesophagus	Gesamtlänge	773 "	805 "	3
	musk. Teil: Länge	250 "	260 "	3
	Breite	46 "	48 "	3
	drüs. Teil: Länge	523 "	545 "	3
	Breite (maximal)	125 "	130 "	3
	" " " Exkretionsporus	160 "	195 "	5
Vulva bis Anus	100 "	90 "	120 "	4
Anus bis Schwanzspitze	55 "	40 "	80 "	4
Eier, Länge	42 "	39 "	46 "	20
Breite	31 "	30 "	34 "	20
Länge der aus dem Ei gedrückten Embryonen	210 "	180 "	265 "	7
Männchen				
Gesamtlänge	10,4 mm	9,5 mm	11,2 mm	8
Breite maximal	340 μ	310 μ	365 μ	6
Kopfbreite	60 "	55 "	65 "	3
Oesophagus	Gesamtlänge	745 "	780 "	3
	musk. Teil: Länge	227 "	230 "	3
	Breite	41 "	45 "	3
	drüs. Teil: Länge	518 "	550 "	3
	Breite (maximal)	102 "	115 "	3
	Kopfende bis Exkretionsporus	153 "	170 "	4
Kloake bis Schwanzspitze	90 "			1
Spicula, Länge	220 "	214 "	232 "	4
Telamon, Länge	47 "			1

Der Oesophagus, der in seinem Beginne von einem Kranz einzelliger, länglicher Drüsen umgeben wird, ist in zwei Abschnitte unterteilt, eine schmale kurze vordere Partie und einen dicken, drüsigen hinteren Abschnitt, der sich kaudalwärts verbreitert. Der vordere Oesophagusabschnitt wird in seiner Mitte vom Nervenring überbrückt.

Der Exkretionsporus liegt in Höhe der hinteren Kante des Nervenringes und markiert sich durch eine Einziehung der Cuticula (Fig. 1). Vom Porus aus führt ein feiner Kanal in ein birnenförmiges Exkretionsorgan, in dem 3 große Zellkerne sichtbar sind, und von dem die beiden Exkretionsgefäße ihren Ausgang nehmen. Letztere sind relativ weitlumige Kanäle, die in Wellenlinien die Seitenlinien entlang ziehen und kurz vor der Schwanzspitze mit einer kleinen Erweiterung blind enden (Fig. 4). Cervicalpapillen sind nicht vorhanden.

Der Darm hebt sich von den hellen Fortpflanzungsorganen durch seine dunkelbraune Färbung ab. Sein etwa $1\frac{1}{2}$ mm langer Anfangsteil erhält durch buckel- und wulstförmige Ausstülpungen seiner Wandung ein eigentümliches Gepräge (Fig. 9). Der restliche Teil zieht als glatter dünner Kanal in geradem Verlaufe schwanzwärts.

Männchen: Der männliche Keimschlauch (Fig. 5) nimmt im vorderen Körperdrittel seinen Anfang. Er zieht zunächst als dünner Strang schwanzwärts, dann in einer Schlinge kopfwärts und von da an unter allmählicher Dickenzunahme nach der Kloake. Etwas vor dem Ende des mittleren Körperdrittels zeigt er eine deutliche Einschnürung.

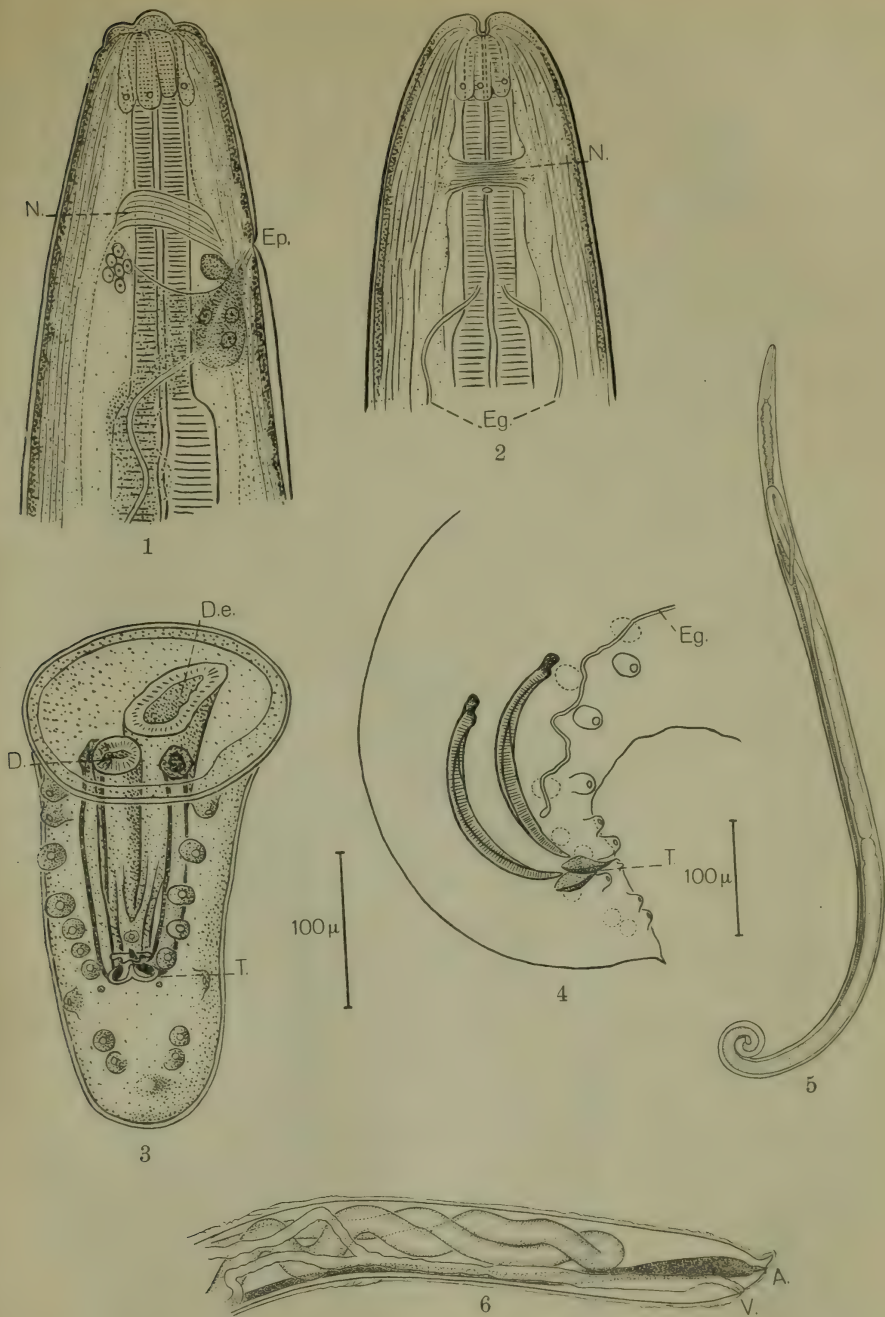


Fig. 1. Vorderende von *Oslerus cynopitheci*, Weibchen. Seitliche Ansicht.
 Fig. 2. Dasselbe. Ventralansicht.
 Fig. 3. Hinterende von *Oslerus cynopitheci*, Männchen. Ventralansicht.
 Fig. 4. Dasselbe, seitliche Ansicht.
 Fig. 5. *Oslerus cynopitheci*, Männchen.
 Fig. 6. Hinterende von *Oslerus cynopitheci*, Weibchen.

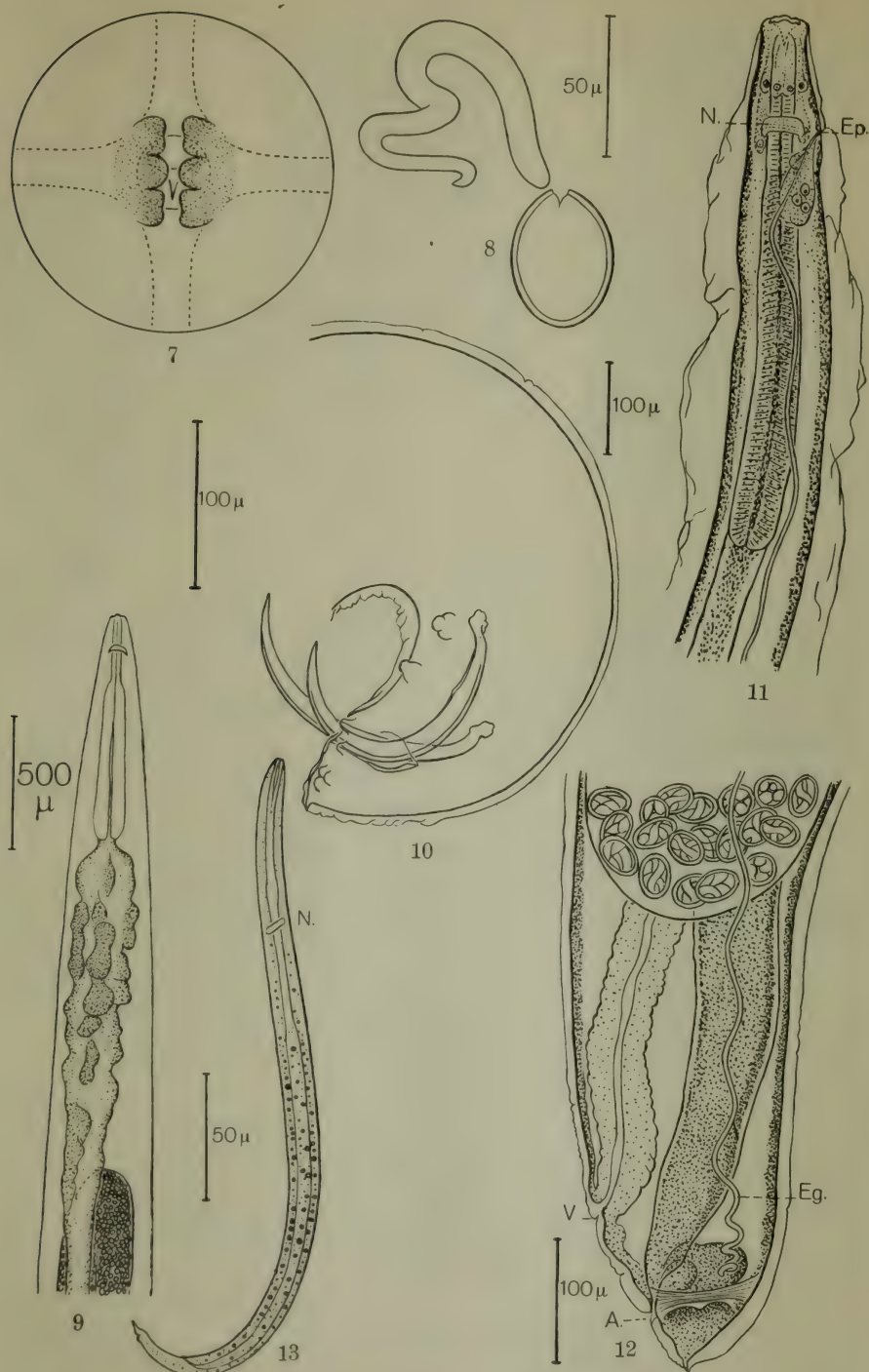


Fig. 7. *Oslerus cynopithecii*, Weibchen. Frontalansicht des Kopfes.

Fig. 8. Embryo von *Oslerus cynopithecii*, aus der Eischale herausgedrückt.

Fortsetzung der Figurenerklärung von S. 434.Fig. 9. Vorderende von *Oslerus cynopithecii*, Weibchen.Fig. 10. Hinterende von *Oslerus felis*, Männchen, seitliche Ansicht.Fig. 11. Vorderende von *Oslerus felis*, Weibchen, seitliche Ansicht.Fig. 12. Hinterende von *Oslerus felis*, Weibchen, seitliche Ansicht.Fig. 13. Larve aus den Respirationswegen des mit *Oslerus felis* infizierten Ozelots, wahrscheinlich Larve von *Ollulanus tricuspis*.

Abkürzungen: A. Anus, D. Darm, D. c. Ductus ejaculatorius, Eg. Exkretionsgefäß, Ep. Exkretionsporus, N. Nervenring, T. Telamon, V. Vulva.

Das männliche Hinterende besitzt zwei Reihen kugeligter Papillen (Fig. 3 und 4), deren Anordnung folgende ist: Präanal finden sich jederseits 4—7 nach der Kloake zu an Größe abnehmende Papillen (bei einem Exemplar fand ich links 7, rechts 5, bei einem zweiten links und rechts je 5 und bei einem dritten links und rechts je 4 Papillaren). Dicht vor der Kloake scheint sich in der Mittellinie noch eine kleine unpaare Papille zu befinden. Postanal liegen 3 Paare großer und 1 Paar kleiner Papillen, deren Anordnung aus Fig. 3 und 4 hervorgeht. Schwanzalae sind nicht vorhanden.

O. *cynopithecii* besitzt zwei gleich lange sichelartig gekrümmte Spicula, die mit einem knopfartigen Muskelansatz beginnen und in eine Spitze auslaufen. Die Substanz der Spicula ist von gelbbrauner Farbe und zeigt eine deutliche Querschraffierung. Das Hilfsstück (Accessory piece) ist, da es dicht vor der Kloakenöffnung gelegen und paarig gebaut ist, mit Hall als Telamon zu bezeichnen. Es besteht aus zwei in der Mitte verschmolzenen Stücken, die in der Form von Halbröhren den Spicula Durchtritt gewähren (Fig. 3).

Weibchen: Die weiblichen Keimschläuche nehmen in schraubenförmigen Windungen sich gegenseitig umschlingend fast das ganze Wurminnere ein; nur das Vorderende — ca. 2 mm — bleibt frei. Das Hinterende ist dadurch charakterisiert, daß Vulva und Anus dicht zusammen kurz vor der Schwanzspitze gelegen sind (Fig. 6). An eine kurze Vagina schließt sich ein langer Ovejektor an, der sich in etwa 800 μ Entfernung von der Vulva in die beiden Uterusarme teilt. Der Enddarm mündet 100 μ hinter der Vulva. Die Vulva und meist auch der Anus wölben sich leicht nach außen vor.

Die Eier (Taf., Fig. 1) sind von sehr regelmäßig elyptischer Gestalt und sind stark lichtbrechend. Sie erinnern in ihrem Habitus an die Eier von *Gongylonema neoplasticum*. Auch der in den Eiern enthaltene Embryo besitzt eine ähnliche Gestalt wie bei dieser Art. Diejenigen Eier, die sich in den Endabschnitten der Geschlechtswege befinden, oder bereits abgelegt sind, besitzen einen spiralig in der Schale aufgerollten Embryo. Die durchsichtige Eischale ist strukturlos und bei reifen Eiern ca. 2,5 μ dick. Die Schale unreifer Eier aus den Geschlechtswegen besitzt einen größeren Durchmesser: 3—4 μ . Aus reifen Eiern künstlich herausgedrückte Embryonen lassen keine innere Struktur erkennen. Sie zeigen ein dickes Vorder- und ein dünnes Hinterende, das in eine plumpe Schwanzspitze ausläuft (Fig. 8). Die Länge der Embryonen betrug bei 7 Messungen 180—265 μ , doch stellen möglicherweise nur die längeren Exemplare völlig reife Embryonen dar.

***Oslerus felis* n. sp.**

Die kleinen Bronchien eines Ozelot, *Felis pardalis*, aus Südamerika, enthielten zahlreiche Exemplare einer zweiten neuen *Oslerus*-Art. Trachea und Hauptbronchien waren frei von den Parasiten. Insgesamt wurden 70 unbeschädigte Weibchen aus den Lungen herauspräpariert. Erst nach längerem Suchen gelang es auch, zwei der kleinen Männchen aufzufinden. Im ganzen mag die Lunge 120—150 Würmer beherbergt haben. Der Tracheal- und Bron-

chialschleim sowie auch der Darminhalt enthielten massenhaft Oslerus-Eier und lebhaft bewegliche Nematodenlarven, von denen weiter unten die Rede sein wird. Zwei im Dünndarm gefundene mazerierte Stücke von Oslerus-Weibchen dürften wie bei der vorigen Art durch Aushustung und Verschlucken dahin gelangt sein. Die linke Lunge bot makroskopisch ein normales Bild, die rechte war blutig imbibiert. Im Blute wurden keine Nematodenlarven gefunden.

Maße:

	Mittel	Minim.	Maxim.	Zahl der Messungen	
Weibchen					
Gesamtlänge	18,0 mm	16,7 mm	19,0 mm	10	
Größte Breite	640 μ	570 μ	720 μ	4	
Kopfbreite	53 "	50 "	56 "	6	
Breite in Höhe d. Oesophagusendes	120 "	106 "	132 "	5	
Breite in Vulvahöhe	140 "	127 "	153 "	6	
Oesophagus	Gesamtlänge	550 "	490 "	582 "	6
	musk. Teil: Länge	150 "	140 "	162 "	6
	" " Breite	29 "	27 "	30 "	6
	drüs. Teil: Länge	400 "	350 "	440 "	6
	" " Breite (maximal)	55 "	47 "	60 "	6
Kopfende bis Exkretionsporus	120 "	105 "	125 "	4	
Vulva bis Anus	77 "	67 "	92 "	6	
Anus bis Schwanzspitze	57 "	56 "	58 "	5	
Eier, Länge	47,3 "	45 "	50 "	20	
" Breite	33,6 "	31 "	36 "	20	
Länge aus dem Ei herausgedrückter Embryonen	225 "	210 "	245 "	7	
Maximale Breite derselben	12—13 "			2	
Männchen (Material: 2 Exemplare)					
Gesamtlänge		6,7 mm	7,1 mm		
Größte Breite		280 μ	290 μ		
Kopfbreite		40 "	42 "		
Breite in Höhe d. Oesophagusendes		155 "	178 "		
Breite in Kloakenhöhe		51 "	60 "		
Oesophagus	Gesamtlänge	466 "	483 "		
	musk. Teil: Länge	126 "	133 "		
	" " Breite	20 "	21 "		
	drüs. Teil: Länge	340 "	350 "		
	" " Breite (maximal)	44 "	47 "		
Kopfende bis Exkretionsporus		—	106 "		
Kloake bis Schwanzspitze		38 "	47 "		
Spicula, Länge		205 "	—		
Telamon, Länge		43 "	—		
Spicula, Breite (maximal)		13—14 μ	—		

Beschreibung: *Oslerus felis* ist von weißer Farbe und mittelschlanker Wurmgestalt. Der größte Körperdurchmesser liegt etwa in der Mitte des Wurmes. Nach vorn zu geht der Körper unter allmählicher Verjüngung in den sehr schlanken Kopfteil über. Die Breitenabnahme nach dem Schwanz zu ist hingegen nur gering. Die Schwanzspitze endet mit einer ziemlich unvermittelten Abrundung, die in ein unscheinbares Endspitzchen ausgezogen ist. Beim Männchen ist das Hinterende spiralig aufgerollt, beim Weibchen dagegen völlig gestreckt. Das Männchen fällt durch seine Kleinheit auf: seine Gesamtlänge beträgt etwas weniger als die Hälfte der Länge des Weibchens.

Die Cuticula ist beim Weibchen teilweise vom Körper abgehoben und in Falten gelegt. Beim Männchen liegt sie der Körperwandung größtenteils

fest an. Ueber besondere Strukturen der Cuticula des Männchens siehe weiter unten.

Der Kopf trägt eine kreisförmige Mundöffnung (Fig. 11), über deren Niveau sich jederseits eine unscheinbare Laterallippe nur wenig erhebt. Zu beiden Seiten von jeder dieser Lippen finden sich zwei kleine Höcker, die wohl als Submedianpapillen angesprochen werden müssen. Der Uebergang von der Mundöffnung zum Oesophagus wird durch ein trichterförmiges Lumen vermittelt. Eine Mundkapsel oder ein deutliches Vestibulum fehlen. Unmittelbar hinter der Mundöffnung verschmälert sich das Vorderende etwas, um von da an beständig an Breite zuzunehmen. Der Anfangsteil des Oesophagus ist von mehreren langgestreckten einzelligen Drüsen umgeben, deren Kerne sich deutlich vom körnigen Plasma abheben.

Der Oesophagus (Fig. 11) besteht aus zwei deutlich voneinander getrennten Teilen, einem kurzen vorderen Abschnitt von geringer Breite, dessen Zellen klar und durchscheinend sind und einem breiteren hinteren Abschnitt, dessen Zellen gekörntes Plasma enthalten. Dieser letztere Abschnitt zeigt eine nur ganz geringe Breitenzunahme nach dem Darne zu und ist durch eine scharfe Trennungslinie von letzterem abgesetzt.

Der Darm ist von dunkelbrauner Farbe und zieht in geradem Verlaufe meist durch die umfangreichen Sexualorgane an die Körperwandung gedrückt nach hinten. Kurz vor dem Anus erweitert sich sein Lumen etwas. Cervicalpapillen fehlen.

Der Nervenring ist etwas hinter der Mitte des vorderen Oesophagusabschnittes gelegen. In gleicher Höhe mit ihm befindet sich der Exkretionsporus (Fig. 11). Der Exkretionskanal führt von diesem zunächst in einen granulierten birnenförmigen Zellkomplex, das Exkretionsorgan hinein, aus dem sich drei große Zellkerne abheben und teilt sich dann in die beiden Seitenäste, die in flachen Wellenlinien oder auch fast gerade schwanzwärts verlaufen. Kurz vor der Schwanzspitze enden diese Gefäße, nachdem sie einige korkzieherartige Windungen ausgeführt haben, blind (Fig. 12). Das Exkretionssystem ist in seinem ganzen Verlaufe von einer deutlichen homogenen Wandung umkleidet. Das Lumen der Seitenkanäle ist relativ weit.

Männchen: Die Cuticula des Männchens zeichnet sich vor dem anderen Geschlechte durch den Besitz von jederseits 5 lateral verlaufenden Längslinien aus. Diese haben einen gleichen Abstand von 27—28 μ und werden durch eine Stäbchenstruktur der inneren Cuticulaschicht gebildet. Bei starker Vergrößerung erkennt man, daß die mittlere der 5 Linien, die gerade über dem Exkretionsgefäß zu liegen kommt, aus zwei unmittelbar nebeneinander liegenden Reihen senkrechter Stäbchen besteht. Die vier anderen Linien lösen sich in eine feine, aus einzelnen Stäbchen zusammengesetzte Zickzacklinie auf. Dreht man den Wurm so, daß man nicht senkrecht, sondern seitlich auf eine Linie blickt, so kann man erkennen, daß die Stäbchenstruktur nur von der inneren Cuticulaschicht gebildet wird, während die äußere glatt darüber hinwegzieht. Am Kopfende werden die Linien unregelmäßig und undeutlich, auch verschwinden sie am Hinterende etwa dort, wo die Aufrollung des Schwanzteiles beginnt.

Die männlichen Geschlechtskanäle bieten das gleiche Bild wie es für *Oslerus cynopithei* beschrieben worden ist. Auch das Hinterende ähnelt der vorigen Art sehr. Es finden sich zwei gleich lange sichelförmige Spicula (Fig. 10), die in eine Spitze auslaufen und am proximalen Ende ein rauhes Knöpfchen als Ansatz für den musc. retractor tragen, ferner ein Telamon, das sich aus 2 Blättern zusammensetzt. Die Papillenanordnung am Hinterende ist folgende: kopfwärts von der Kloake liegen jederseits zwei große Papillen, die aus einem kugelförmigen basalen Teil und einem, diesem aufsitzenden kleineren Knopf

bestehen. Unmittelbar seitlich von der Kloake liegen jederseits zwei einfache kleinere Papillen und schwanzwärts von diesen findet sich noch jederseits eine Gruppe von 3 unscheinbaren kleinen Papillen. Schwanzalae fehlen.

Weibchen: Die weiblichen Sexualorgane füllen $1\frac{1}{2}$ –2 mm hinter dem Kopfe beginnend und bis ins Schwanzende reichend, fast den ganzen Wurmkörper aus. Die Vagina, ein dickwandiger, etwas gefalteter Schlauch mündet kurz vor der Schwanzspitze. Der Anus ist zwischen Vulva und äußerster Schwanzspitze gelegen, umgeben von seiner Schließmuskulatur und einigen großen drüsigen Zellen. Die Geburtswege enthalten keine freien Embryonen, sondern stets Eier.

Die Eier besitzen bereits in den unteren Abschnitten des Uterus einen aufgerollten Embryo. Sie gleichen denen der vorigen Art völlig. Durch Druck auf das Deckglas gelingt es leicht, Larven aus der gesprengten Eischale herauszupressen. Diese besitzen dieselbe Gestalt wie es für *O. cynopitheci* abgebildet ist (siehe Fig. 8) und sind durchschnittlich 225 μ lang und 12–13 μ maximal breit.

Freie Larven aus der Lunge und dem Darm.

Im Bronchial- und Trachealschleim, ferner im Darminhalt des mit *Oslerus* behafteten Ozelot fanden sich, wie oben erwähnt, neben *Osleruseiern* zahlreiche lebhaft bewegliche Nematodenlarven, die ich zunächst ohne weiteres als im Wirt aus Eiern ausgeschlüpfte *Oslerus-Larven* ansprach. Diese Larven (Fig. 13) sind 260–345 μ , im Mittel 313 μ lang (13 Messungen) und 13,5 μ maximal dick. Sie besitzen einen Oesophagus mit einer mittleren Anschwellung, der 37 Proz. der Gesamtlänge vom Kopfe entfernt in den Darm übergeht. Der Anus liegt $\frac{1}{13}$ – $\frac{1}{12}$ der Körperlänge von der Schwanzspitze entfernt. Letztere besitzt eine charakteristische Gestalt (siehe Fig. 13). Sie trägt dorsal eine kleine Vorwölbung, die von einer Einkerbung gefolgt ist. Auf der ventralen Seite entspricht der Einkerbung eine sanfte Vorbuchtung. Der Nervenring ist an fixierten, gefärbten Exemplaren gemessen, 22,5 Proz. vom Kopfe entfernt. Die hintere Hälfte der Larven teilweise auch die vordere, ist von einer Tröpfchengranula erfüllt. Die Larven konnten in einem Gemische von Trachealschleim und Medizinalkohle bei Zimmertemperatur über einen Monat am Leben erhalten werden. Ihre Größe und Gestalt blieb dabei völlig unverändert. Vergleicht man diese frei im Bronchialschleim gefundenen Larven mit den aus der Eischale herausgepressten, so zeigt sich, daß erstere um ca. $\frac{1}{3}$ größer sind und daß letzteren das charakteristische Schwanzende der ersteren fehlt. Wenn ein Zusammenhang zwischen beiden besteht, müßten die freien Larven durch Häutung aus den letzteren hervorgegangen sein. Später sind mir Zweifel gekommen, ob diese Larven wirklich mit der *Oslerus*-Infektion in Zusammenhang stehen. Ob es sich nicht vielmehr um Larven einer anderen Nematodenart, vielleicht *Ollulanus tricuspidis* handeln könne. Erwachsene Exemplare dieser Art habe ich zwar im Magen nicht gefunden. Sie können mir aber wegen ihrer Kleinheit (1 mm nach Leuckart) entgangen sein. Leuckart fand die Larven von *Ollulanus tricuspidis* nicht nur im Darm, sondern auch in der Lunge, insbesondere auch im Bronchialschleim. Die von L. angegebene Länge der Larven 320 μ weicht von der Länge der von mir gefundenen Larven kaum ab. Auch ist die von L. gegebene Abbildung meinen Larven recht ähnlich; insbesondere besitzt nach Leuckart auch die Larve von *Ollulanis tricuspidis* eine „eigene S-förmig gekrümmte“ Schwanzspitze. Zufällig erhielt ich später eine Kotprobe von einem 2. Ozelot. Diese enthielt die gleichen Larven, hingegen keine *Oslerus*-Eier. Damit dürfte entschieden sein, daß es sich nicht um *Oslerus*-Larven, sondern wahrscheinlich um Larven von *Ollulanis tricuspidis* handelt.

Differentialdiagnose.

Von den bisher bekannten 3 *Oslerus*-Arten unterscheiden sich die beiden neuen Species in folgenden Hauptpunkten:

Oslerus osleri, Oslerus barretoii und Oslerus gordius	Oslerus cynopitheci n. sp. und Oslerus felis n. sp.
1. Maximale Dicke unter 400 μ	über 400 μ
2. Oesophaguslänge „ 400 „	„ 400 „
3. Spiculalänge bis 100 „	„ 200 „
4. Länge der Eier über 60 „	bis 50 „

Die Merkmale, die *O. cynopitheci* und *O. felis* voneinander abgrenzen, sind einmal Unterschiede der Gesamtlänge: Die *Felis*-Weibchen sind größer als die *Cynopitheci*-Weibchen; hingegen sind die *Felis*-Männchen kleiner als die *Cynopitheci*-Männchen. *O. cynop.* ist fernerhin durch einen längeren Oesophagus und eine keulenförmige Verbreiterung desselben am hinteren Ende ausgezeichnet. Das Vorderende von *O. felis* ist spitzer und dünner ausgezogen. Dementsprechend ist auch die Kopfbreite geringer, *O. cynop.* besitzt deutliche 3 lappige Seitenlippen, *O. felis* dagegen nur unscheinbare einfache Seitenlippen. Auch das männliche Hinterende läßt Unterschiede erkennen: Bei *O. cynop.* finden sich 4—7 Paare großer präanaler Papillen, bei *O. felis* nur zwei. Endlich sind die Männchen der letzteren Art noch durch den Besitz von jederseits 5 Längslinien der Cuticula von den *Cynopitheci*-Männchen unterschieden.

Maßtabelle der Oslerusarten.

	Oslerus osleri	Oslerus barretoei	Oslerus gordius	Oslerus cynopitheci	Oslerus felis
Gesamtlänge ♀	9—15 mm (Rabe)	9,0—14,0 mm ²⁾	—	12,6—16,3 mm	16,7—19,0 mm
Gesamtlänge ♂	9 mm (Rabe)	6,5 mm ²⁾	—	9,5—11,2 mm	6,7—7,1 mm
Breite ♀	150—275 μ (Rabe)	300 μ	150 μ	420—450 μ	570—720 μ
Breite ♂	—	280 μ ²⁾	120 μ	310—365 μ	280—290 μ
Kopfbreite bis Exkret.-Porus ♀	—	140—190 μ	85—108 μ	130—195 μ	105—125 μ
Kopfbreite bis Exkret.-Porus ♂	—			140—170 μ	106 μ
Oesophaguslänge ♀	250 μ (Rabe) (100 μ, Blumberg)	240—320 μ	150—170 μ	760—820 μ	490—582 μ
Oesophaguslänge ♂	—			615—780 μ	466—483 μ
Vulva-Anus	20 μ Blumberg	105—121 μ	68—78 μ	90—120 μ	67—92 μ
Anus bis Schwanzspitze ♀	—	35—49 μ	32—42 μ	40—80 μ	56—58 μ
Eier, Länge	80 μ (Rabe) ¹⁾	78 μ	63—85 μ	39—46 μ	45—50 μ
Eier, Breite	50—60 μ (Rabe) ¹⁾	49 μ	35—38 μ	30—34 μ	31—36 μ
Spicula, Länge	48 u. 56 μ (Blumberg)	100 μ	63 μ	214—232 μ	205 μ
Hilfsstück (accessory piece Telamon)	—	49 μ	28 μ	47 μ	43 μ

Die systematische Stellung der Gattung Oslerus.

Die Frage, in welche Obergruppe wir das Genus *Oslerus* einzuordnen haben, ist bisher in recht verschiedener Weise beantwortet worden. Osler nannte den Parasiten, den er 1877 als erster in den Bronchien des Haushundes

1) In einem zweiten Falle fand Rabe die größten Eier 132 μ lang und 80 μ breit.

2) In der Arbeit von Travassos stehen folgende Zahlen: „Comprimento: ♀ 90 a 140 mm; ♂ 65 mm. Largura: ♂ 0,028 mm.“ Diese aus der Regel fallenden Zahlen lassen mich vermuten, daß sich hier Druckfehler eingeschlichen haben, und daß es heißen soll: 9,0 a 14,0 mm, 6,5 mm und 0,280 mm. (Eine Gesamtbreite des Männchens von 28 μ ist unmöglich, wenn allein schon der Oesophagus 38—42 μ breit ist.)

fand, *Strongylus canis bronchialis*, Cobbold (1879) betrachtete den Nematoden, da er keine für *Strongylus* eigentümlichen Strukturen, insbesondere keine männliche Bursa sehen konnte, als *Filarie* und nannte ihn *Filaria osleri*. Nach Hall (1921) ist der Parasit soweit von der Typenart *Filaria martis* Gmelin 1790 des Genus *Filaria* entfernt, daß er nicht in die Oberfamilie *Filaroidea* eingereiht werden dürfte. Er betrachtet das Genus *Oslerus* vorläufig als zur Oberfamilie *Spiruroidea* gehörig, während Travassos 1921 die von ihm bei Affen gefundenen Würmer *Oslerus barreto*i und *Oslerus gordius* als *Metastrongyliden* mit verkümmerter Bursa auffaßt.

Das männliche Hinterende der von mir untersuchten Arten besitzt keinerlei Andeutung einer Bursa, die in zwei Reihen angeordneten Papillen können nicht als atrophierte Strahlen einer Bursa angesprochen werden. Infolgedessen kann ich mich von einer Zugehörigkeit der beiden Arten zu den *Metastrongyliden* nicht überzeugen. Das eingerollte männliche Hinterende hat vielmehr den Habitus wie bei *Spiruroiden* und *Filaroiden*. Ausführliche Beschreibungen des männlichen Hinterendes der anderen *Oslerus*-Arten, insbesondere der Papillenanordnung liegen bisher leider noch nicht vor. Da wir die *Filaroidea* außer Betracht lassen können, weil die befallenen Wirte keine Mikrofilarienbrut berherbergen, die embryonenhaltigen Eier vielmehr mit dem Kote ins Freie gelangen, so glaube ich mit Hall, daß das Genus *Oslerus* unter die *Spiruroidea* einzureihen ist. Für die Zugehörigkeit zu dieser Oberfamilie spricht noch das Vorhandensein zweier lateraler Lippen und bis zu einem gewissen Grade auch die Gestalt der Eier und Embryonen. Wenn es gelingt, die Uebertragung von *Oslerus* durch einen Arthropodenzwischenwirt nachzuweisen, dann wäre die Zugehörigkeit zu den *Spiruroiden* auch nach biologischen Gesichtspunkten bestätigt.

Bei einem Versuche, *Oslerus* in eine Familie der *Spiruroiden* einzugliedern, zeigte sich, daß die meisten Familien außer Betracht gelassen werden können, weil sie besondere morphologische Eigentümlichkeiten besitzen, die *Oslerus* fehlen, und daß nur zwei Familien, die *Spiruriden* und *Thelaziiden*, zur engeren Wahl übrig bleiben. Die *Spiruriden* sind stets mit wohl ausgebildeten Schwanzalae ausgestattet, die von gestielten Papillen gestützt werden, während die beiden von mir untersuchten *Oslerus*-Arten keinerlei Schwanzalae und dicke runde Schwanzpapillen besitzen. Mit den *Thelaziiden* bestehen hingegen nahe Beziehungen, sowohl morphologischer wie biologischer Art: Unter den *Thelaziiden* gibt es Formen,

- 1) denen Schwanzalae fehlen (*Thelazia*, *Oxyspirura* usw.),
- 2) bei denen die Vulva kurz vor dem Anus gelegen ist (*Oxyspirura*),
- 3) die kleinen seitlichen Lippen tragen (*Desmidocerca*, *Desmidocercella*),
- 4) denen eine Mundkapsel oder ein deutliches Vestibulum fehlt (*Haplonema*),
- 5) deren Spicula gleich lang sind (*Haplonema*).

6) Biologisch besteht eine Verwandtschaft darin, daß manche Genera der *Thelaziiden* in der Nasenhöhle oder in den Luftsäcken, also in den Respirationswegen, vorkommen (*Desmidocerca*, *Desmidocercella*, *Ceratospira*).

Aus diesen Gründen glaube ich, daß die Gattung *Oslerus* in die Familie der *Thelaziiden* einzuordnen ist.

Versuche über Entwicklung und Uebertragung von *Oslerus*.

Zunächst war die Frage zu prüfen, ob *Oslerus*-Eier im Freien, außerhalb eines Wirtes, auszuschlüpfen vermögen. Eier von beiden Arten wurden mit

Medizinalkohle vermengt auf Urschälchen in dünner Schicht ausgebreitet und in einer feuchten Kammer bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Innerhalb einer Beobachtungszeit von 3 Monaten schlüpften keine Eier aus. Darauf wurden die Eier unter denselben Bedingungen im Brutschrank bei 37° gehalten, auch in diesem Falle ohne daß die Embryonen ihre Eischale verließen.

Alle Versuche, Infektionen mit den beiden *Oslerus*-Arten zu erzielen, verliefen bisher ergebnislos. Zunächst stellte ich zwei Experimente mit direkter Uebertragung an:

1) Ein javanischer Makak erhielt durch Magensonde eine große Menge aus der Lunge ausgewaschener, embryonenhaltiger *Cynopithec*-Eier. Am nächsten Tage gingen die Eier ungeschlüpft mit dem Kote ab. Die Embryonen waren in der Eischale etwas geschrumpft. Leere Eihüllen wurden nicht beobachtet. Der Kot des Affen wurde viele Wochen lang mehrfach untersucht, ohne daß jemals *Oslerus*-Eier gefunden werden konnten.

2) Ein junges Kätzchen wurde mit Hilfe des Magenschlauches mit einem Gemische von Kohle und Trachealschleim, der zahlreiche Eier von *O. felis* enthielt, gefüttert. Obwohl die Eier infolge einer Obstipation 4 Tage im Darmkanal verweilt hatten, wurden sie doch unverändert wieder mit den Fäces ausgeschieden. Leere Eihüllen oder freie Larven waren in diesem Kote nicht vorhanden. 2 Monate nach der Verfütterung der Eier starb das Kätzchen an einer experimentellen *Strongyloides*-Infektion. Lunge makroskopisch frei von *Oslerus*. Die histologische Lungenuntersuchung ergab ebenfalls ein negatives Resultat. Mehrmalige Kotuntersuchungen auf *Oslerus*-Eier waren vorher stets negativ verlaufen.

Wenn das Genus *Oslerus* den *Spiruroidea* angehört, dann ist zu erwarten, daß ein Arthropode als Zwischenwirt dient. In Betracht zu ziehen wären insbesondere kotfressende Gliederfüßler bzw. deren Larven. Aus dieser Erwägung heraus wurden folgende Versuche angestellt:

1) Eine größere Zahl von *Periplaneta orientalis* wurde 10 Tage lang mit einem eierhaltigen Gemisch von Kohle und Trachealschleim ernährt. Im Kote der Tiere fanden sich die Eier stets unverändert wieder. Die Untersuchung der Küchenschaben selbst ergab keinen Anhalt für eine Invasion mit *Oslerus*-Larven.

2) Ein gleicher Versuch wurde mit Mehlwürmern, den Larven von *Tenebrio molitor*, angestellt und verlief ebenfalls negativ.

3) Ein vorläufiger Versuch mit Fliegenmaden scheiterte daran, daß dieselben in einem Gemische von Pferdekot und mit Kohle untermengtem eierhaltigen Lungenschleim keine Nahrung zu sich nahmen und abstarben. Der Versuch muß unter günstigeren Bedingungen wiederholt werden.

Diese Experimente stellen nur einige tastende Vorversuche dar, und können natürlich keinerlei Anspruch auf Vollständigkeit erheben. Möglicherweise wird es überhaupt sehr schwierig sein, den geeigneten Zwischenwirt aufzufinden, da die Weiterentwicklung vielleicht nur in einer außereuropäischen Species von statten geht.

Pathologisch-anatomische Veränderungen durch *Oslerus*.

Die Veränderungen, die *Oslerus* beim Haushunde verursacht, kennen wir durch die Arbeiten von Osler, Blumberg und Rabe. In der Schleimhaut der Luftröhre und der Bronchien, besonders in der Gegend der Bifurkation, finden sich hirse Korn- bis erbsengroße, graurötliche Knoten, die aus fibrösem Bindegewebe bestehen, in das zahlreiche Würmer, vielfach ineinander verschlungen, eingebettet sind. Die Enden der Parasiten ragen teilweise aus den Knoten hervor. Rabe fand den Parasiten auch mit einem Körperende in den Ausführgängen der traubigen Drüsen innerhalb der Trachea festhaftend. Die Drüsenausführgänge waren dabei von einer wallartigen Anschwellung umgeben.

Die durch die beiden neuen *Oslerus*-Arten verursachten Veränderungen weichen von diesen Befunden hauptsächlich darin ab, daß es zu keiner Knötchenbildung kommt.

Oslerus cynopitheci. Sitz der Würmer ist das Lumen des Bronchialbaumes. Während in den Hauptbronchien sich nur wenige Exemplare fanden, waren die Bronchien zweiter und dritter Ordnung mit zahlreichen Parasiten besetzt. Die Trachea und das Lungengewebe selbst waren frei von *Oslerus*. Die Oberfläche der Lunge bot nichts Besonderes. An den Schnittflächen die, dunkelrot und etwas derb waren, ließen sich aus den eröffneten Bronchien Würmer herausdrücken. Die Innenwand der größeren Bronchien war zerklüftet und mit gelblichem Schleime bedeckt, der *Oslerus*-Eier enthielt. Zur mikroskopischen Untersuchung wurden Stückchen der Lunge in Formalin fixiert und in Schnittserien zerlegt.

Die histologischen Veränderungen betreffen in erster Linie die Bronchien. Eine Querschnittserie durch einen großen Bronchus bot folgendes Bild (Tafel-figur 4 u. 5): Im Lumen liegen bis 4 Wurmquerschnitte nebeneinander, eingehüllt in Detritus- und Schleimmassen, die von Epithelfetzen, Polymorphkernigen, Rundzellen, Wurmeiern und Bakterien durchsetzt sind. An der Wandung fällt eine rege Epitheldesquamation ins Auge. Das Bronchialepithel wird hier entweder in ganzen Schichten nach dem Innern abgestoßen, so daß manchmal mehrere konzentrische Lagen nacheinander abgelöster Schichten übereinander liegen oder es stößt sich in einzelnen Bröckeln ab. Die Lamina propria und die Submucosa sind mit Polymorphkernigen und Rundzellen infiltriert. Eosinophile sind vereinzelt vorhanden, beherrschen aber nicht in dem Maße das Bild, wie wir es bei anderen Wurminvasionen sehen. Die unbewohnten Seitenäste dieses großen Bronchus sind zum Teil vollständig mit polymorphkernigen Leukozyten ausgefüllt.

In den kleinen Bronchien die von *Oslerus* befallen sind, ergreift die Wandzerstörung, die in den großen Bronchien nur das Epithel betrifft, auch noch tiefere Schichten. Das Epithel vermissen wir hier meist vollständig. Auch die Basalmembran und die Lamina propria fallen häufig dem Parasiten zum Opfer, so daß die innere Begrenzung des Bronchus durch die Zellen der Muscularis gebildet wird. Aber selbst diese kann teilweise oder völlig zerstört sein (Tafelfig. 2). Detritusmassen fehlen in diesen kleinen Bronchien, die vom Parasiten ganz ausgefüllt werden, meist vollständig. Im Lungengewebe selbst finden sich atelektatische Bezirke in der Nachbarschaft von Bronchien, deren Lumen mit Würmern und Detritus verlegt ist, ferner bronchopneumonische Prozesse. Aber nur die ersteren haben wir wohl als unmittelbare Wirkungen des Parasiten zu betrachten. Denn für die pneumonischen Herde dürften Pneumokokkenähnliche Bakterien, die zahlreich in das zellarme Alveolarexsudat eingestreut sind, verantwortlich zu machen sein. Höchstwahrscheinlich hat aber auch für diese Bakterieninfektion des Gewebes die Wurminvasion der Bronchien eine begünstigende Rolle gespielt.

Ob das in der Lunge reichlich vorhandene braune Pigment, das teils in Form von groben Körnern extrazellulär, teils als feines Granulat intrazellulär, insbesondere um die Gefäße herum gelagert ist, in einem Zusammenhang mit der Wurminvasion steht, muß dahingestellt bleiben.

Ueber die Art der Ernährung von *Oslerus* können wir einigen Aufschluß erhalten, wenn wir in Schnittpräparaten den Oesophagusinhalt untersuchen. Wir finden hier dieselben Bestandteile wie in den Detritusmassen, die die Würmer umgeben: Epithelzellen, Leukozyten, Bakterien usw. und schließen daraus, daß sich *Oslerus* vorwiegend von diesen ins Bronchiallumen abgestoßenen Bestandteilen ernährt, wobei sich allerdings nicht ausschließen läßt, daß der Parasit auch das intakte Gewebe der Bronchialwand angreift. Das Letztere ist wahrscheinlich in den kleinen Bronchien der Fall, die völlig frei von Detritus

sind. Rote Blutkörperchen konnte ich niemals im Verdauungskanale des Parasiten nachweisen.

Oslerus felis: Auch diese Art hat ihren Sitz in den Bronchien, während die Trachea und das Lungenparenchym frei bleiben. Makroskopisch bot die linke Lunge des Ozelot ein normales Bild, die rechte war blutig imbibiert.

Die durch diesen Parasiten bewirkten Veränderungen sind geringer als die durch den vorigen. Entzündungserscheinungen fehlen, von kleinen Zellansammlungen an der Bronchialwand abgesehen, fast vollkommen. Das Epithel unterliegt keiner Desquamation, erleidet aber Veränderungen in seiner räumlichen Struktur. Dadurch, daß der Parasit das Lumen der kleinen Bronchien ganz ausfüllt, und offenbar noch einen Druck auf dasselbe ausübt, wird der Epithelbelag flach ausgezogen. Auf diese Weise wird unter Verlust des Flimmerbesatzes aus dem mehrschichtigen Zylinderepithel stellenweise ein einschichtiges Zylinder- oder sogar ein einschichtiges Plattenepithel (Tafelfig. 3).

Im Lungenparenchym finden sich aufgerollte Nematodenlarven, die von einer dünnen Bindegewebshülle umgeben sind. Es dürfte sich um Larven von *Ollulanus tricuspis* handeln.

Zusammenfassung.

Es werden 2 neue Nematodenarten des Genus *Oslerus* Hall 1921 beschrieben: *Oslerus cynopitheci* aus *Cynopithecus maurus* und *Oslerus felis* aus *Felis pardalis*, die in den Bronchien parasitieren. Die beiden Nematoden werden als *Spiruroidea* aufgefaßt, die der Familie *Thelaziidae* Railliet, 1916 morphologisch und biologisch am nächsten stehen.

Direkte Uebertragungsversuche mit *O. cynopitheci* auf einen javanischen Makaken und mit *O. felis* auf eine junge Hauskatze führten, ebenso wie Versuche, Arthropodenzwischenwirte (*Periplaneta orientalis*, *Tenebrio molitor*) zu infizieren, zu keinem Ergebnis.

Die pathologisch-anatomischen Veränderungen durch *Oslerus cynop.* bestehen in einer Entzündung der Bronchialwand mit intensiver Epitheldesquamation und einer nach außen fortschreitenden Zerstörung der Wandschichten. Bei Infektion mit *O. felis* fehlen Entzündungserscheinungen fast völlig. Infolge von Druckwirkung durch den Parasiten kommt es hier zu einer Auseinanderzerrung und Abflachung des Bronchialepithels.

O. cynop. ernährt sich vorwiegend von den in das Bronchiallumen abgeschiedenen Gewebsbestandteilen.

Literaturverzeichnis.

Blumberg, C., Ueber Wurmknoten auf der Tracheal- und Bronchialschleimhaut des Hundes. (Dtsch. Ztschr. f. Tiermed. Bd. 8. 1882. S. 223—225.) — Cobbold, T. S., Parasites a treatise on the Entozoa of man and animals. London 1879. p. 304—305. — Hall, M. C., Two new genera of Nematodes with a note on a neglected nematode structure. 1921. Nr. 2386. (Proc. U. S. Nat. Museum. Vol. 59. p. 541—46.) — Osler, W., Verminous Bronchitis in Dogs. (The Veterinarian. Vol. 50. Juni 1877. p. 387—397.) — Price, E. W., The coyote (*Canis latrans* extensis) a new host for *Oncicola canis* (Kaupp) and *Oslerus osleri* (Cobbold). (Journ. of Parasitology. März 1928. Vol. 14. Nr. 3. p. 197.) — Rabe, C., Tracheitis verrucosa verminosa der Hunde. (Dtsch. Ztschr. f. Tiermed. u. vergl. Pathol. Bd. 9. 1883. S. 180—184. 1 Tafel. — Travassos, L., Nematodeos novos I. (Brazil Medico. XXXV. Bd. 2. Nr. 24. Dez. 1921. p. 367—368.) — Yorke u. Maplestone, The Nematode Parasites of Vertebrates. London 1926.

Erklärung der Tafelabbildungen.

Fig. 1. Reife Eier von *Oslerus cynopitheci*, mit aufgerolltem Embryo. Vergr. 1:180.

Fig. 2. Uebersichtsbild eines großen Bronchus bei Invasion mit *Oslerus cynopitheci*. Es sind mehrere Wurmquerschnitte im Innern sichtbar, umgeben von Schleim und Detritus. Bronchialepithel in Desquamation begriffen. Der sich im unteren Drittel des Bildes abzweigende Bronchus ist durch einen Pfropf, der vorwiegend aus Leukozyten besteht, verlegt. Vergr. 1:16.

Fig. 3. Teilausschnitt des im vorigen Bilde dargestellten großen Bronchus. Desquamation des Epithels. Zellige Infiltration der Wandschichten. Vergr. 1:55.

Fig. 4. *Oslerus cynopitheci* in einem kleinen Bronchus. Wandschichten bis auf Reste der Muscularis zerstört. Vergr. 1:86.

Fig. 5. *Oslerus felis* in einem kleinen Bronchus, dessen Wandschichten dilatierend. Bronchialepithel teilweise zu einer Art Plattenepithel abgeflacht. Vergr. 1:120.

Nachdruck verboten.

Ueber den Infektionsweg bei *Rhabdias bufonis* (*Rhabdonema nigrovenosum*) des Frosches nebst Versuchen über die Lymphzirkulation des letzteren.

[Aus dem Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten zu Hamburg (Direktor: Obermedizinalrat Prof. Dr. B. Nocht), Helminthologische Abteilung (Leiter Prof. Dr. F. Fülleborn).]

Von Prof. Dr. med. et phil. nat. h. c. **F. Fülleborn.**

Mit 3 Abbildungen im Text und 1 Tafel.

Inhaltsübersicht.

I. Vorbemerkungen	S. 444—447
II. Experimenteller Teil.	
A. Voruntersuchungen über den Transport kleiner Körper durch die Blut- und Lymphzirkulation des Frosches (Versuche mit subkutan eingebrachten lebenden und abgetöteten <i>Strongyloides-Filariformen</i> und mit Samen <i>Lycopodii-Körnchen</i>)	S. 447—451
B. Infektionsversuche mit <i>Rhabdias</i> -Larven am Frosch	S. 451—457
III. Biologische Schlußfolgerungen aus den Befunden bei experimenteller <i>Rhabdias</i> -Infektion	S. 458—459
IV. Zusammenfassung der Hauptergebnisse	S. 460—461
Literaturverzeichnis	S. 461—462

I. Vorbemerkungen.

Bekanntlich bewohnt *Rhabdias bufonis* als ein etwa 1—2 cm lang werdender zwitteriger Fadenwurm die Lunge unserer Frösche und Kröten. Die von den Lungenschmarotzern reichlich produzierten, schon einen weit entwickelten Embryo enthaltenden Eier werden durch die Aktion des Flimmerepithels der Luftwege (s. S. 453) in den Schlund und durch das beim Frosch auch Schlund und Speiseröhre auskildende Flimmerepithel weiterhin bis zum Magen des Wirtes transportiert; von dort gelangen sie mit der Nahrung zur Kloake, wo sich die inzwischen den Eiern entschlüpften Larven ansammeln. Eine Weiterentwicklung der *Rhabdias*-Larven kann aber erst stattfinden, wenn die mit dem Froschkote ausgestoßenen Larven mit der Luft in Berührung kommen; Dann entwickeln sie sich im Erdboden zu nur etwa $\frac{1}{2}$ mm langen ♂♂ und ♀♀, die den „freilebenden“ kleinen Erdnematoden ähneln, dagegen ganz anders aussehen als ihre relativ großen in der Froschlunge lebenden Erzeuger. Erst die Nachkommenschaft der im Freien lebenden Geschlechtsgeneration vermag wieder in der Froschlunge zu dem großen Zwitterwurm auszureifen. Man bezeichnet bekanntlich diesen eigenartigen Entwicklungsgang, bei dem das Kind jedesmal nicht seinen Eltern, sondern seinen Großeltern gleicht, mit Leuckart als „Heterogenie“. Das Verdienst, die Heterogenie bei *Rhabdias* nachgewiesen zu haben, gebührt allerdings nicht Leuckart, sondern offenbar seinen später gleichfalls so berühmt gewordenen Schüler E. Metchnikoff.



Fig. 1.

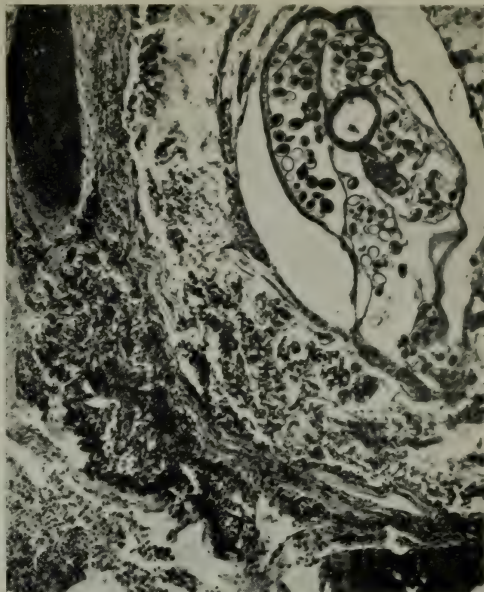


Fig. 3.



Fig. 2.

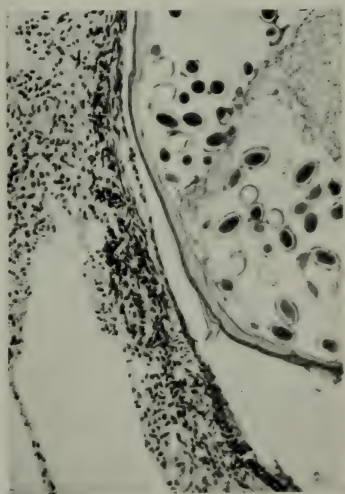


Fig. 5.

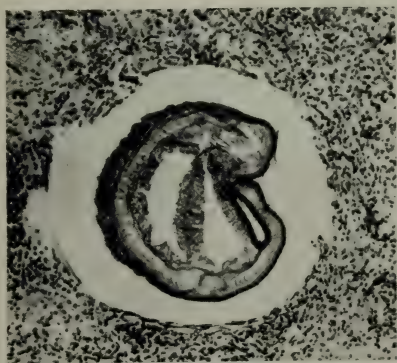


Fig. 4.

Zur Morphologie und Biologie der infektiösen *Rhabdias*-Stadien.

Morphologie. Die für den Frosch infektionsfähigen *Rhabdias*-Larven leben gleich ihren Erzeugern — den Männchen und Weibchen der freilebenden Generation — im Erdboden und sind schlanke, sehr lebhaft bewegliche Würmchen von „filariformem“ (strongyloidem) Habitus, d. h. ihr langer Oesophagus besitzt keinen ausgesprochenen „Bulbus“, sondern ist annähernd zylindrisch gestaltet. Sie messen ca. 0,5–0,7 mm (im Mittel etwa 650 μ ¹⁾, von denen fast genau $\frac{1}{3}$ auf den transparenten Oesophagus entfällt, während die Zellen des Darmes durch aufgespeichertes Nahrungsmaterial dunkler erscheinen; die Dicke der Larve beträgt ca. 20 μ . Der „selbständige, pfriemförmige Anhang der Schwanzspitze“, den Leuckart (l. c. Bd. 2. S. 145) beschreibt, ist nur das unterste Ende einer bereits abgelösten Larvenhaut, in der die *Rhabdias*-Larve ganz wie die Ancylostomenlarve in ihrer „Scheide“ steckt; ebenso verhalten sich auch die Larven anderer *Rhabdias*-Arten (siehe Goodey, l. c. 1924 a u. b und Travassos l. c.)

Biologie. Die *Rhabdias*-Filariformen besitzen gleich anderen Nematodenlarven eine sehr ausgesprochene negative Rheotaxis, d. h. sie wenden sich in engen Röhren mit ihrem Vorderende gegen die Strömung (siehe Fülleborn, l. c. 1924). Auch das ja ebenfalls durch irgendwelche „taktische Reize“²⁾ verursachte Hochklettern der Filariformen an Fädchen usw., das Goody für *Rh. fuscovenosa* erwähnt, wird gelegentlich beobachtet. Positive Thermotaxis, die Goody (l. c. 1924 a) bei *Rhabdias fuscovenosa* beobachtete, ist auch bei *Rh. bufonis* deutlich nachweisbar, wenn schon nicht so ausgesprochen, wie z. B. bei Strongyloides-Filariformen. [Da die Thermotaxis der *Rhabdias*-Larven — im Gegensatz zu den in Warmblüterhaut eindringenden Strongyloides- und Hakenwurmlarven — die Perkutananinfektion beim kaltblütigen Frosch nicht erleichtern kann, spielt sie, wie ich bereits früher (l. c. 1924. S. 158) andeutete, wohl noch eine andere Rolle im Leben mancher Nematodenlarven. Auch Schwartz (l. c. S. 455) betont, daß Thermotaxis bei den Larven mancher Warmblüterparasiten vorhanden ist, obschon diese im Versuche nicht perkutan infizieren].

Bei Luftmangel (z. B. in Wasser unter Deckglas) werden die offenbar sehr sauerstoffbedürftigen *Rhabdias*-Larven schnell unbeweglich, um jedoch bei Luftzutritt wieder munter zu werden. Durch Eintrocknen schrumpfen sie innerhalb der losen Larvenhaut stark zusammen, werden aber, wenn das Eintrocknen nicht zu lange dauert, bei Wasserzusatz wieder beweglich; nach Goodey (l. c. 1924 a) wird Eintrocknen auf einer Glasplatte von *Rh. fuscovenosa* für ca. 1 Tag oder vielleicht noch länger vertragen.

Kultivierung der *Rhabdias*-Larven.

Zur Kultivierung der *Rhabdias*-Filariformen wurden die aus der Lunge von *Rana temporaria* gewonnenen Würmer mit Nadeln zerzupft und zusammen mit dem larvenhaltigen Kote der Froshkloake angesetzt; ist letzterer zu spärlich, so füge man etwas Menschenkot hinzu, den man nach einem Vorschlage von Travassos vorher sterilisieren kann, damit sich die dem Froshkote eigentümlichen Bakterien darin besser vermehren können. Dann wird ein Petri-Schälchen mit nassem Sande etwa $\frac{1}{2}$ cm hoch gefüllt, das überflüssige Wasser abgegossen und in der Mitte des Petri-Schälchens dessen Boden auf einer ca. 2 cm großen Stelle, vom Sande wieder vollständig befreit. Hier wird der mit dem nötigen Wasser gemischte larvenhaltige Kot in so dünner Lage auf der Glasunterlage ausgebreitet, daß die Schicht für durchfallendes Licht zwecks mikroskopischer Kontrolle noch genügend durchscheinend ist. Das zugedeckte Petri-Schälchen bleibt dann bei warmer Zimmertemperatur für 5 Tage oder länger in der feuchten Kammer stehen. Kurz vor dem Gebrauch wird der nasse (in seinen oberen Abschnitten aber noch lufthaltige) Sand, in den sich die dem Kote entfliehenden *Rhabdias*-Filariformen begeben, mit Wasser ausgeschwemmt und die Larven durch Sedimentation in Spitzgläsern daraus gewonnen. Die abpipettierte larvenhaltige Flüssigkeit kommt dann der besseren Durchlüftung wegen in dünner Schicht in flache Uhrgläser; Hineinblasen von Luft mittelst eines Gummigebläses steigert die Lebhaftigkeit der Larven. Nach vielen Versuchen erwies sich diese Kultivierungsmethode als die bequemste und wirksamste.

Wie gelangen die *Rhabdias*-Larven zur Froshlunge?

Leuckart (l. c. Bd. 2. S. 146) gelang es, die Infektion der Froshlunge mit *Rhabdias* dadurch zu erzeugen, daß er *Rhabdias*-Filariformen enthaltenden Schlamm im Rachen der Versuchsfrösche mit dem Skalpelliastiel möglichst

1) Bei Wärmestarre gemessen, einschließlich der etwa 20 μ langen äußersten Schwanzspitze, die aber nur aus einer „leeren“ Larvenhaut besteht.

2) Vergl. hierzu Fülleborn, Ueber Taxis (Tropismus) bei Strongyloides- und Ancylostomenlarven. (Arch. f. Schiffs- u. Trop.-Hyg. Bd. 28. 1924. S. 152).

ausbreitete: „das Maul wurde dabei längere Zeit hindurch klaffend erhalten und die Glottis mit Hilfe einer Pinzette geöffnet“. Der Grund des häufigen Mißlingens der Versuche läge wohl darin, „daß die Frösche nach dem Schluß des Mundes die Erde alsbald verschlingen und die jungen Würmer dann in den Magen bringen, in dem sie nach wenigen Tagen, ohne eine andere Veränderung, als die schon erwähnte Häutung¹⁾, absterben“. „Im Freien“, fährt Leuckart fort, „werden die Parasiten aller Voraussicht nach selbständig in den Rachen der Frösche einwandern. Da sie im Schlamm und feuchter Erde leben, so dürfte sich damit auch wohl in einfacher Weise die Tatsache erklären, daß die *Ascaris nigrovenosa* bei dem Erdfrosche (*Rana temporaria*) ungleich häufiger angetroffen wird, als bei dem Wasserfrosch (*Rana esculenta*), obwohl der letztere für das helminthologische Experiment gerade so tauglich ist wie der erstere“.

Wären diese Annahmen von Leuckart zutreffend, so wären wir genötigt, den *Rhabdias*-Larven einen wunderbaren Instinkt zuzusprechen, der sie nicht nur den Frosch selbst, sondern auch das Innere von dessen, ja fast stets verschlossenem Maul und weiterhin dann die zur Lunge führende Glottisspalte auffinden läßt.

Wir werden uns aber nur dann zur Annahme derartig rätselhafter „Instinkte“ in der Biologie entschließen, wenn sich auf Grund unserer derzeitigen Kenntnisse absolut keine andere Möglichkeit zum Verständnis unserer Beobachtungen auffinden läßt und das bewog mich, die Frage des Infektionsweges bei *Rhabdias* erneut zu prüfen.

Bei der nahen Verwandtschaft zwischen *Rhabdias* und *Strongyloides* — der ja ebenfalls in den Luftwegen der Lunge geschlechtsreif werden kann²⁾ — lag die Annahme nahe, daß auch der Infektionsweg für beide Formen ein ähnlicher sein würde: d. h. daß die Filariformen von *Rhabdias* ebenso wie die von *Strongyloides* sowohl durch die Haut, als auch durch die Wandungen des Magendarmkanals in den Körper eindringen könnten, um dann mit der Zirkulation zur Lunge zu gelangen³⁾.

Daß tatsächlich auch bei *Rhabdias bufonis* die Infektion sowohl durch die Haut als auch durch die Wandungen des Magendarmkanals hindurch stattfindet, konnte ich bereits in den Jahren 1919—1920 experimentell erweisen.

Ueber die Perkutaninfektion bei *Rhabdias bufonis* habe ich 1920 in einer kurzen Publikation (l. c.) berichtet; über die Möglichkeit der Infektion des Frosches durch verfütterte *Rhabdias*-Larven, finden sich einige Notizen in den unter F. 1921 (S. 374) und F. 1924 (S. 98) zitierten Arbeiten.

Kosuge (l. c.) bestätigte 1924 in meinem Laboratorium das Eindringen der Larven in die Froschhaut und stellte ferner fest, daß sie gleich anderen perkutan infizierenden Nematodenlarven auch in die Haut eines „falschen Wirtes“, d. h. in die einer lebenden Maus eindringen.

Bei *Rhabdias fuscovenosa* der Ringelnatter (*Tropidonotus natrix*) sah Goodey (l. c. 1924 a) in zwei nach seiner „Floating cork and skin method“ angestellten Versuchen kein Eindringen der Larven in die abgezogene Haut. Er fand jedoch 10 Tage nach Verfüttern der Larven an die Ringelnatter in deren schwammigen („spongy“) Mesenterium zwischen Leber und Lunge 14 fast ausgereifte *Rh. fuscovenosae*, die — wie er annimmt — wohl auf aktiver Wanderung zur Lunge begriffen waren⁴⁾. Letzteres sei dahingestellt (siehe hierzu S. 457), doch beweist der Versuch jedenfalls auch für *Rh. fuscovenosa* die Infektionsmöglichkeit durch Verfütterung der Larven.

1) Gemeint ist das Abstreifen der tatsächlich bereits vordem losgelösten Larvenhülle.

2) Siehe Fülleborn. 1914. S. 35.

3) Fülleborn, 1914.

4) Goodey (l. c. S. 60) schreibt: „From the situation in which the worms occurred it seems probable that they make their way to the lungs, after penetrating the gut wall, by direct migration through the mesentery and not via the blood stream“.

Der Grund, weshalb ich erst jetzt eingehender über meine in den Hauptergebnissen schon vor 7—8 Jahren vorliegenden *Rhabdias*-Versuche berichte, ist, daß ich erst noch weitere mich interessierende Einzelheiten über den Weg, auf dem die Parasiten von Haut oder Magendarmkanal zur Lunge gelangen, feststellen wollte, was mir trotz zahlreicher, inzwischen immer wieder von neuem aufgenommener Versuche erst jetzt bis zu einem gewissen Grade gelungen ist.

Als „Arbeitshypothesen“, auf welche Weise die in den Körper des Frosches eingedrungenen *Rhabdias*-Larven die Lunge, wo sie geschlechtsreif werden, erreichen, kamen — abgesehen von der oben bereits besprochenen, aber unbefriedigenden Annahme eines sie leitenden „Instinktes“ — folgende Möglichkeiten in Betracht:

1) Es wäre möglich, daß die *Rhabdias*-Larven durch vom Lungengewebe oder von dessen Stoffwechselprodukten ausgehende chemotaktische Reize in dieses Organ „gelockt“ würden: Ein Analogon dazu wäre das Eindringen von mit Hundeblood durch die Anophelesmücke aufgesogenen Mikrofilarien in deren Malpighischen Gefäße, da nach den Versuchen von Fülleborn (l. c. 1912) auch mit zerquetschten Malpighischen Gefäßen gefüllte Glaskapillaren die Mikrofilarien aus dem Blute anlocken. Die mit *Rhabdias*-Larven angestellten Experimente ergaben aber keinen Anhalt dafür, daß diese vom Lungenschleim des Frosches — wenigstens von dem von *Rana esculenta* — chemotaktisch angelockt werden. Auch würden die Larven ja nur beim Verfüttern an den Frosch Gelegenheit haben, mit den aus der Glottis herausgeflimmerten Stoffwechselprodukten der Lunge — z. B. Lungenschleim — schon außerhalb der Lunge in Berührung zu kommen, während sie bei perkutaner Infektion erst dann den von der Lungensubstanz eventuell ausgehenden Einwirkungen unterworfen sein können, wenn sie auf irgendeine Weise in die Lunge bereits eingedrungen sind.

2) Es wäre möglich, daß von den in den Froschkörper eingedrungenen *Rhabdias*-Larven nur diejenigen ausreifen, die bei ihrem zwar aktiven, aber durch keine „Instinkte“ oder durch keine „Chemotaxen“ geleiteten „ziellosten“ Herumwandern im Froschkörper rein zufällig gerade in die Lunge gelangt sind, während die übrigen zugrunde gehen. Auch dafür ließen sich Analogie aus der Parasitologie anführen.

3) Endlich könnten die *Rhabdias*-Larven die Froschlunge überhaupt nicht durch „aktive Wanderung“, sondern durch „passiven Transport“ mit der Blut- und Lymphzirkulation erreichen, wie das nachweislich z. B. bei *Strongyloides stercoralis* sowohl nach Infektion durch die Haut wie durch den Magen beim Säugetier der Fall ist. Da die Zirkulation beim Säugetier aber eine wesentlich andere als beim Frosche ist, und wir speziell von dessen Lymphzirkulation noch recht wenig wissen, waren über die letztere orientierende Vorversuche notwendig.

II. Experimenteller Teil.

A. Vorversuche über den Transport kleiner Körper durch den Blut- und Lymphstrom des Frosches.

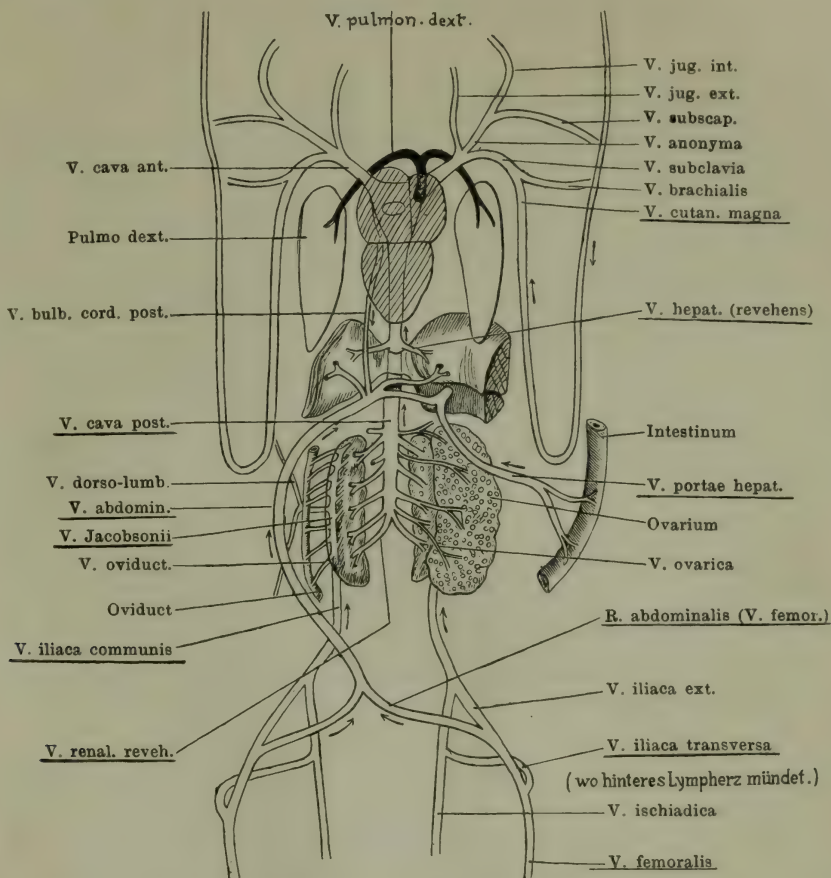
a) Versuche mit lebenden, unter die Haut gebrachten *Strongyloides*-Filariformen.

Nach Perkutaninfektion des Frosches mit Filariformen von *Strongyloides stercoralis* fand Kosuge (l. c. S. 182) die Larven in der Lunge, sonst aber nur im Magen — wohin sie übrigens wohl erst bei der Sektion mit blutigem Lungenschleim geflimmert werden — und einmal auch in der Bauchhöhle, nicht aber in anderen Organen.

Bei einem von mir angestellten Versuche, bei dem sehr zahlreiche lebende *Strongyloides*-Filariformen einem Frosche unter die Haut gespritzt wurden, waren nach 13½ Std.

Die vorher abgetöteten *Strongyloides*-Larven waren also offenbar mit der Zirkulation aus den subkutanen Lymphräumen zur Niere und Leber gelangt. In der Lunge, wo sie nicht nachgewiesen wurden, mochten sie übersehen worden sein.

c) Versuche mit unter die Haut gespritzten Körnchen von Samen *Lycopodii*.



Textfig. 2. Schematische Darstellung der Hauptvenenbahnen bei *Rana esculenta*♀; Ansicht von der Ventralseite. (Nach Gaup l. c.)

Da abgetötete *Strongyloides*-Larven im Lungengewebe des Frosches zu schwer nachweisbar sind, wurden statt dessen in Kochsalzlösung aufgeschwemmte Samen *Lycopodii*-Körnchen¹⁾ in den subkutanen Bauchlymphsack des Frosches eingespritzt. Die Frösche wurden 5, 16 und 18 Std. später getötet.

In allen 3 Fällen fanden sich in den Nieren sehr reichlich *Lycopodium*-Körnchen, und bei einigen der letzteren bestand kein Zweifel, daß sie in kleinen Blutgefäßen lagen (siehe Tafel Fig. 3). Auch im Lungengewebe — wo sie ebenfalls in Blutgefäßen stecken mögen — waren die Körnchen nicht selten (Tafel Fig. 2), während nur spärliche in der Leber enthalten

1) Das leicht verstäubende *Lykopolium*-Pulver wird in Alkohol abs. gebracht, worin es zu Boden sinkt; der Alkohol wird dann durch Zentrifugieren wieder möglichst vollständig entfernt und durch physiologische NaCl-Lösung, der $\frac{1}{5}$ Volumen 10proz. Gummi arabicum-Lösung zugefügt ist, ersetzt. Nach Durchschütteln erhält man eine gute Emulsion mit isolierten Körnchen (siehe Tafel Fig. 1). Der Stempel der Injektionsspritze ist mit Vaseline einzufetten. Ueber Samen *Lycopodii* als Injektionsmasse siehe auch Fülleborn, 1925, S. 88.

waren. In Milzpräparaten wurden auch ein paar Körnchen gesehen. Bei einem Frosch, bei dem die Bauchhöhle untersucht wurde, fand sich in der (aber auch etwas bei der Sektion hineingelaufenes Blut enthaltenden) Spülflüssigkeit ebenfalls ein Körnchen. Im Gehirn wurde in allen 3 Fällen nichts gefunden.

Die *Lycopodium*-Körnchen waren also aus dem unter der Bauchhaut gelegenen Lymphraum mit der Zirkulation besonders zur Niere, in geringerem Grade zur Lunge und vereinzelt auch zu anderen Organen gelangt.

d) Schlußfolgerungen aus diesen Versuchen.

Da die in den subkutanen Bauchlymphsack eingespritzten und später in den Organen wiedergefundenen *Lycopodium*-Körnchen sich nicht aktiv in die Blutbahn einbohren können, kommt für sie zunächst nur der Lymphstrom als Beförderungsmittel in Betracht. Da die Körnchen in den Nieren des Frosches aber in Blutgefäßen stecken, müssen sie auf dem Wege bis zur Niere aus der Lymphbahn in die Blutbahn übergetreten sein. Obgleich wir, wie Gaup (l. c.) bemerkt, nichts genaueres über die Lymphzirkulation des Frosches wissen, ist es nach dem Ausfall der *Lycopodium*-Versuche doch kaum zu bezweifeln, daß die Körnchen auf einem der zahllosen Wege, die den Bauchlymphsack des Frosches mit dem Gebiete der hinteren Lymphherzen verbinden, zunächst in letztere gelangen und durch sie hindurch dann in eine der *Venae ilacae transversae* gepumpt werden. Von dort führt der Blutstrom aber zur *V. iliaca communis*, die in ihrer Fortsetzung als *V. Jakobsonii* zur wichtigsten der „Nieren-Pfortaden“ wird¹⁾. Es müssen also die kleinsten Verzweigungen der letzteren sein, in denen unsere *Lycopodium*-Körnchen zum Teil stecken geblieben sind.

Durch die klassischen Versuche von Cohnheim (l. c.) wissen wir aber, daß die Kapillaren des Frosches sich nach Embolie stark erweitern können, und wenn nach meinen Versuchen die Säugetier-Kapillaren unter solchen Umständen 20 μ große *Coccidienzysten* passieren ließen²⁾, können wir wohl erwarten, daß die relativ weiten Frosch-Kapillaren auch 30 μ große *Lycopodium*-Körner hindurchlassen. Mit dem durch die *V. V. renales* revehentes in der *V. cava posterior* wieder gesammelten Blute der Nieren-Pfortader werden diese Körnchen zum Herzen des Frosches getragen werden und von dort durch die *Arteriae pulmo-cutaneae* zum Teil auch zu den Lungen gelangen. Aber auch wenn diese Körnchen in der Lunge stecken bleiben und nicht mit den Lungenvenen zum Herzen zurückkehren, werden bei den eigenartigen Zirkulationsverhältnissen des Frosches die *Lycopodium*-Körnchen mit dem Blute der Aortenbögen (bzw. der *Art. cutaneae magnae*) auch zu allen anderen Organen gelangen können — was beim Säugetierkreislauf ja nicht der Fall sein würde! —, wodurch sich die Anwesenheit der Körnchen in Leber und Milz bei unseren Versuchen hinreichend erklärt.

Aus dem eben Erörterten ergibt sich also, daß in den Bauchlymphsack des Frosches gespritzte *Lycopodium*-Körner offenbar durch den Lymphstrom in die hinteren Lymphherzen gelangen, die sie zunächst in das die „Nieren-Pfortaden“ speisende Venenblut befördern. Nach Passieren durch die Kapillaren der Nieren-Pfortader gelangen die Körnchen durch die *V. cava posterior* zum Herzen und dort zur Lunge und anderen Organen.

e) Uebertragung der gewonnenen Ergebnisse auf das mutmaßliche Verhalten der *Rhabdias*-Larven bei perkutaner Infektion des Frosches.

Welchen Weg die *Lycopodium*-Körnchen einschlagen würden, wenn sie nicht im Gebiet der hinteren, sondern in dem der vorderen Lymphherzen eingespritzt würden, braucht nicht erörtert zu werden, da meine experimentellen Perkutaninfektionen mit *Rhabdias*-Larven stets über dem Bauchlymphsack stattfanden. An dieser Stelle bzw. auf der Unterseite der Beine — aber jedenfalls im Bereiche der hinteren Lymphherzen — wird übrigens auch unter natürlichen Bedingungen die Perkutaninfektion bei auf larvenhaltigem Erdboden hockenden Fröschen zu erwarten sein.

1) Beim Frosch ist bekanntlich nicht nur in die Leber, sondern auch in die Niere ein „Pfortadersystem“ eingeschaltet (s. Textfig. 1 u. 2).

2) Vergl. Fülleborn. 1925. S. 91.

Da die *Lycopodium*-Körnchen 30 μ , die *Rhabdias*-Larven nur 20 μ dick sind, ist kein mechanischer Grund ersichtlich, weshalb nach Perkutaninfektion der Bauchhaut in die subkutanen Lymphräume gelangte *Rhabdias*-Larven sich anders verhalten sollen als unsere *Lycopodium*-Körner.

Der Einwand, daß die *Rhabdias*-Filariformen zu beweglich wären, um der schwachen Lymphströmung des Frosches zu folgen, wäre nicht stichhaltig: Denn ebenso wie die *Strongyloides*-Filariformen verharren sie beim Fehlen besonderer Reize wahrscheinlich lange Zeit hindurch unbeweglich, und innerhalb des Froschkörpers dürfte das ebenfalls der Fall sein. Auch die noch zu erörternden tatsächlichen Befunde nach perkutaner *Rhabdias*-Infektion ließen sich sehr wohl mit der Annahme vereinigen, daß die Larven zunächst mit dem Lymphstrom zu den hinteren Lymphherzen gelangen.

Selbstverständlich läßt sich aber auch nicht ausschließen, daß ebenso wie Hakenwurm- und *Strongyloides*-Larven auch *Rhabdias*-Larven bei Perkutaninfektion sich in Hautvenen einbohren mögen: An dem Gesamtbilde würde das aber wenig ändern, nur würde die große Mehrzahl der in die Hautvenen des Bauches oder der Beine eingebohrten Larven nicht zur Nierenpfortader, sondern durch die V. abdominalis (bzw. die V. cutaneae magna) direkt zum Herzen gelangen.

Die Vorversuche über den Transport kleiner Körper durch die Zirkulation des Frosches sprechen also dafür, daß durch perkutane Infektion der Bauchhaut in den Froschkörper gelangte *Rhabdias*-Larven rein mechanisch durch den Lymph- und Blutstrom zur Lunge gelangen können, auch ohne daß sie sich vorher in Venen eingebohrt haben. Daß auch letzteres vorkommen mag, ist allerdings nicht auszuschließen.

(Da die Zirkulationsverhältnisse des Leber-Pfortadergebietes beim Frosche im Prinzip dieselben wie beim Säugetier sind, erübrigten sich Voruntersuchungen über den voraussichtlichen Weg der *Rhabdias*-Larven bei Verfütterung des Materials.)

B. Infektionsversuche mit *Rhabdias*-Larven an Fröschen.

Das *Rhabdias bufonis*-Material lieferte *Rana temporaria*, während zur experimentellen Infektion meist der größere (und bei unseren aus der Umgebung von Hamburg und Berlin stammenden Froschmaterial auch fast stets *rhabdias*-freie) *Rana esculenta* bevorzugt wurde.

Sehr störend war es, daß die zur Infektion benutzten Frösche regelmäßig auch andere Nematodenlarven in den Geweben beherbergten, von denen manche Arten nicht immer ohne weiteres sicher von *Rhabdias*-Entwicklungsstadien zu unterscheiden waren, so daß, um Irrtümer zu vermeiden, zahlreiche Kontrolluntersuchungen an *rhabdias*-freien Fröschen notwendig wurden.

Im ganzen wurden im Laufe der Jahre Dutzende von Fröschen mit *Rhabdias* infiziert. Die Wiedergabe der mehrere Hefte füllenden ausführlichen Protokolle kann hier natürlich nicht stattfinden. Als Beispiele seien aber Auszüge aus den Protokollen einiger typischer Fälle gebracht; ich wähle dazu solche meiner letzten Versuchsreihe, weil ich dabei mit einer Serie von vorher sicher *rhabdias*-freien Wasserfröschen arbeiten konnte.

1) Perkutaninfektion von *R. esculenta* nach ca. 24 Stunden.

29. 11. 27. Ein mittelgroßer Wasserfrosch, dessen Kot keine *Rhabdias*-Larven enthält, wird mit dünnen Gazestreifen auf einem Brettchen festgebunden, so daß seine Bauchfläche nach oben gerichtet ist. Dann wird eine zahlreiche, sehr lebhaft *Rhabdias*-Filariforme einer 10 Tage alten Kultur enthaltender Wassertropfen (über die Gewinnung der Larven siehe S. 445) auf die Mitte der Bauchhaut gebracht und — bevor er noch auseinanderlaufen kann — mit einer ca. 1½ cm großen Fließpapierscheibe bedeckt; in diese zieht die Flüssigkeit ein, und das Papier bleibt auf der Haut kleben. Um das Auftrocknen der Flüssigkeit (und damit das Eindringen der Larven in die Haut) zu beschleunigen, wird der durch einen „Föhnapparat“)

1) Der von den Friseuren zum Haaretrocknen allgemein benutzte „Föhnapparat“ ist auch sonst im Laboratorium oft von Nutzen. Bei dem obigen Experiment muß der Apparat

erzeugte angewärmte Luftstrom benutzt. Nach dem völligen Trockenwerden wird das Papier für etwa 1 Std. immer wieder mit der larvenhaltigen Flüssigkeit benetzt und dann von neuem getrocknet.

Nach ca. 1 Std. wurden auf der Hautoberfläche des Frosches zahlreiche leere Larvenhüllen gefunden und ebenso auch in dem in Wasser aufgeweichten Fließpapier; in letzterem waren auch eine größere Anzahl innerhalb der Larvenhüllen zusammengeschrunpfter Filariformer vorhanden, die aber allmählich wieder beweglich wurden.

Der Frosch wird sorgsam mit Wasser abgewaschen und bis zum nächsten Tage im gut geheizten Zimmer isoliert gehalten.

30. 11. 27. Etwa 24 Std. nach Abschluß der Perkutaninfektion wurde der Frosch in Aethernarkose untersucht.

Haut: Beim Aufschneiden der Haut über dem Bauchlymphsack entleert sich aus diesem Flüssigkeit, die mit der Pipette aufgesogen wird; es sind schätzungsweise 2—3 ccm Exsudat — beim normalen Frosch findet sich im Bauchlymphsack höchstens eine Spur von Flüssigkeit —, das reich an Leukozyten ist und, wie die spätere Färbung zeigt, sehr zahlreiche Eosinophile enthält. Außerdem findet sich in dem Exsudat auch eine lebhaft bewegliche Rhabdias-Filariforme ohne Larvenhülle.

Die Haut über dem Bauchlymphsack wird in einem Stücke abgetragen und ihre Unterseite mit einem großen Deckglas scharf abgekratzt; in der abgekratzten Substanz finden sich keine Nematodenlarven.

Ebenso wird die Oberseite der Bauchmuskulatur (also das viszerale Blatt des Bauchlymphsackes) abgekratzt: dabei finden sich einige farblos-durchscheinende, rundliche, aus Zellen bestehende Gebilde von ca. 1 mm Größe und darüber, die meist in Paketen zu mehreren zusammenliegen und in denen sich zahlreiche — im ganzen über ein Dutzend — Nematodenlarven befinden. Nach Gestalt und Maßen handelt es sich zweifellos um Rhabdias-Filariforme; innerhalb der zelligen Substanz sind sie völlig bewegungslos, herausgedrückte Exemplare werden aber sehr munter.

Man würde diese Gebilde ohne weiteres als Lymphdrüsen mit Rhabdias-Larven darin ansprechen, wenn nicht nach Gaup (l. c. Bd. 2. S. 537—538) beim Frosche „eigentliche Lymphdrüsen“ fehlten, obschon „diffuse Anhäufungen von Leukozyten“ (z. B. zwischen den Platten des Mesenteriums und an einigen anderen Stellen) vorkämen. Man könnte vielleicht annehmen, daß diese Gebilde dadurch zustande kämen, daß sich weiße Blutkörperchen an die Rhabdias-Larven anheften, doch sehen die Zellhaufen — die überdies meist in Gruppen zusammenliegen — dazu eigentlich zu regelmäßig aus; auch wäre es mit der obigen Annahme schwer in Einklang zu bringen, warum sich in jedem dieser Gebilde nicht nur eine, sondern oft eine ganze Anzahl von Larven finden, was andererseits bei Lymphdrüsen ja durchaus verständlich wäre.

Gefärbte Präparate habe ich leider nur von einer 10 Tage alten Perkutaninfektion (von der auch das nach dem frischen Präparate aufgenommene Mikrophot Tafel Fig. 4 stammt) zur Verfügung. In diesem Falle bestehen die fraglichen Gebilde nach den Urteil eines in pathologischer Anatomie bewanderten Kollegen aus „Granulationsgewebe“, d. h. aus einem jungen, sehr zellreichen, vaskularisiertem Bindegewebe, das von ziemlich zahlreichen (besonders eosinophilen) Leukozyten sowie von reichlichen Fibroblasten durchsetzt ist. Das Granulationsgewebe wird aber — ebenso wie z. B. in der Leber (siehe S. 454) — erst durch den Parasitenreiz entstanden sein.

Bei Perkutaninfektionen mit Rhabdias fand ich diese offenbar Rhabdias-Filariforme enthaltenden Gebilde übrigens sehr häufig unter der Bauchhaut, während sie bei einwandfreiem Versuchsmaterial — z. B. meiner letzten Serie von 14 *Rana esculenta* — bei den Infektionen per os dort fehlten. Es kamen bei anderen Versuchsserien aber auch Fälle vor, bei denen es sich nicht entscheiden ließ, ob in „Knötchen“ unter der Bauchhaut liegende Larven von der experimentellen Rhabdias-Infektion herrührten oder nicht; außerdem wurden unter der Froschbauchhaut auch Knötchen mit Larven gefunden, die sicher keine von Rhabdias waren.

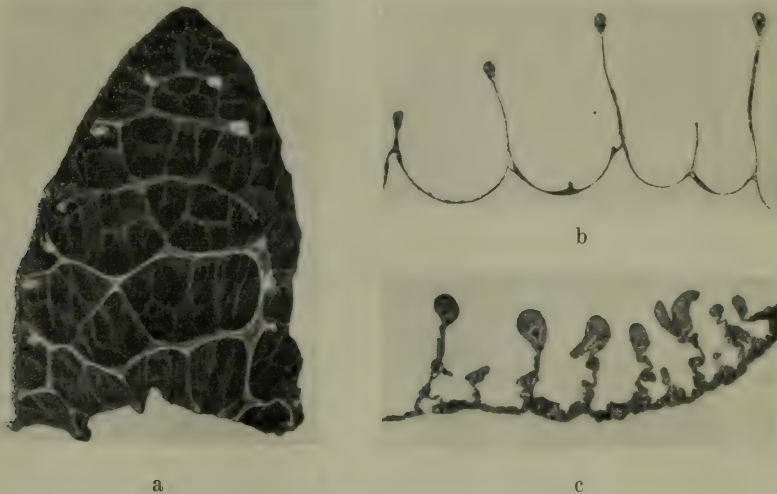
Bauchhöhle: Die unter möglicher Vermeidung von Blutungen (Abklemmen der Blutgefäße) geöffnete Bauchhöhle enthält kein Exsudat. Sie wird mit Kochsalzlösung, der etwas Natr. citric. zugesetzt ist, ausgespült; die Spülflüssigkeit enthält 5 lebhaft bewegliche Rhabdias-Filariforme.

Lungen: Die sehr stark geblähten Lungen werden herausgeschnitten. Als sie nach 1½ Std. mikroskopisch untersucht werden, finden sich in dem aus beiden Lungen heraus-

weit genug entfernt sein, um nur einen ganz geringen Luftzug zu erzeugen, weil sonst trotz der Anwärmung der Luft die Verdunstungskälte die Bohrenenergie der Larven zu stark herabsetzen würde. Aus diesem Grunde soll der Raum, in dem man arbeitet, auch möglichst warm sein. (Natürlich läßt sich das Eintrocknen des Larvenmaterials auch ohne Föhnapparat erreichen).

geflossenen Blute 7 lebhaft bewegliche *Rhabdias*-Filariforme. Kleine Stücke der Lungensubstanz werden zwischen 2 Objektträgern breitgedrückt und durchmustert; in der einen Lunge werden keine, in der anderen 7 *Rhabdias*-Filariforme nachgewiesen. Ob diese Larven in den Lufträumen der Lunge oder im Lungengewebe bzw. in den Lungenarterien liegen, läßt sich nicht feststellen.

Die in dem ausgeflossenen Lungeblut gefundenen Larven hatten sich möglicherweise aus den Lungenarterien entleert. Sie könnten aber auch nach dem Zusammenfallen der herausgeschnittenen Lunge aus deren Luftraum „herausgeflimmert“ worden sein. Denn der Froschlunge fehlen zwar Trachea und Bronchien, hinsichtlich der Funktion des Flimmerepithels werden diese aber durch die Scheitelflächen der die „Luftkammern“ ersetzende Ordnung“ (siehe Gaupl. c., S. 195 ff, Bd. 3) scheidenden Septa ersetzt: während diese Septa nämlich gleich der übrigen Innenfläche der Lunge an ihren Seitenteilen mit respiratorischem Epithel bekleidet sind, tragen sie auf ihrer verdickten Scheitelfläche ein nach außen schlagendes Flimmerepithel, so daß die aufgeblähte Lunge ein sehr weitmaschiges, die weniger Luft enthaltende ein engmaschigeres, mit Flimmerepithel bekleidetes Netz besitzt, während bei völlig kollabierter Lunge der Innenraum mit einem fast lückenlosen Ueberzug von Flimmerepithel ausgekleidet ist. Nematodenlarven, die ursprünglich in den Lungenalveolen gesteckt haben, werden bei kollabierter Lunge aber umso eher in den Bereich des sie herausbefördernden Flimmerepithels geraten, als bei zusammengefallenen Lungen die Weite der Alveolen und die Höhe der sie trennenden Septa sich stark vermindert (siehe Textfigur 3).



Textfig. 3. Lunge von *Rana esculenta*.

a Spitze einer in natürlich aufgeblähtem Zustande mit Alk. absolut. fixierten und dann halbierten Lunge; mikrophot. ca. 2:1.

b Hämatox-Eosin-Schnitt durch die geblähte Lunge; mikrophot. 10:1.

c Dasselbe wie b, aber bei kollabierter Lunge; mikrophot. 10:1.

Da die *Rhabdias*-Filariformen negativ rheotaktisch sind (siehe S. 445), wäre es durchaus möglich, daß sie sich auch unter der Einwirkung der durch das Flimmerepithel erzeugten Strömung mit dem Vorderende gegen die Strömung einstellen und aktiv dagegen anstreben. Notwendig ist das aber nicht, denn zur Auslösung der Rheotaxis wird eine gewisse Strömungsgeschwindigkeit erforderlich sein, die das Flimmerepithel vielleicht nicht erreicht. Versuche, die Frage experimentell zu lösen, ergaben jedenfalls keinen Anhalt dafür, daß die *Rhabdias*-Filariformen gegen den Strom des Flimmerepithels vordringen.

Leber: Obgleich die ganze Leber in Quetschpräparaten durchmustert wird, werden Nematodenlarven darin nicht gefunden. Da aber kleine Larven im Gewebe leicht übersehen werden können, mögen immerhin einige *Rhabdias*-Filariforme auch in der Leber gewesen sein.

Niere: Die Nieren werden in Quetschpräparaten untersucht. In der einen werden 3, in der anderen 8 lebendige *Rhabdias*-Filariforme gefunden.

Zusammenfassung: Etwa 24 Std. nach perkutaner Infektion fanden sich Rhabdias-Filariforme reichlich unter der Haut der Infektionsstelle; ferner in den Lungen und den Nieren, einige auch in der Bauchhöhle; in der Leber wurden sie nicht nachgewiesen.

2) Perkutaninfektion von *Rana esculenta* nach 10 Tagen.

2. 12. 27. Ein rhabdiasfreier *Rana esculenta* wird in der oben bereits beschriebenen Weise auf der Bauchhaut reichlich mit Rhabdias-Filariformen infiziert. Der Frosch wird isoliert und kommt in ein gutgeheiztes Zimmer.

12. 12. 27. 10 Tage nach der Perkutaninfektion wird der Frosch in Aethernarkose untersucht.

Haut: Im Bauchlymphsack kein Exsudat. In einem Abstrich von der Unterseite der Bauchhaut findet sich ein etwa mohnkorngroßes, aus Zellen bestehendes Gebilde, in dem ein unbeweglicher kleiner Nematode vom Habitus der Rhabdias-Filariformen liegt. Ein ganzes „Paket“ derartiger Gebilde, in dem sich im ganzen 2—3 Dutzend solcher Nematoden befinden, wird beim Abstreichen von der Oberseite der Bauchmuskulatur erhalten. Viele der Würmer sehen so aus, als ob ihr Inneres in „körnigem Zerfall“ begriffen sei, und Bewegung wird höchstens bei einem Exemplar beobachtet¹⁾. Die gemessenen und genauer untersuchten Exemplare waren 600—660 μ lang und entsprachen durchaus unverändert gebliebenen (also nicht weiter herangewachsenen) Rhabdias-Filariformen. Ein Teil des Präparates wird frisch photographiert (Tafel Fig. 4) und dieses dann nach Alkoholfixierung mit Hämatoxylineosin gefärbt. Es zeigt sich, daß die Würmer innerhalb von „Granulationsgewebe“ liegen (die genauere histologische Beschreibung wurde bereits auf S. 452 gegeben).

Bauchhöhle: Die von Exsudat freie Bauchhöhle wird unter Vermeidung von Blutungen weit geöffnet und dann sehr gründlich ausgewaschen. In der Spülflüssigkeit finden sich etwa 2 Dutzend Nematoden. Ueber die Hälfte davon sind auf etwa 2½ mm herangewachsene, lebhaft bewegliche Rhabdias; die größten gemessenen Exemplare waren 2650 μ lang. Außerdem finden sich eine Anzahl kleinerer Nematoden in der Spülflüssigkeit, deren Zugehörigkeit zu Rhabdias sehr wahrscheinlich, aber nicht sicher feststellbar ist (die gemessenen Exemplare waren 1200, 1100, 600 und 450 μ ; die letztgenannten beiden waren abgestorben und das kleinste schon mazeriert).

Lunge: Die herausgeschnittenen Lungen werden nach etwa 1 Std. untersucht. In der einen Lunge (bzw. in dem daraus entleerten Blute) werden 10, in der anderen 1 Rhabdias gefunden. Die gemessenen Exemplare sind 2400—3250 μ lang; ihr Darm ist bräunlich, enthält aber noch kein Blut. Ein 12., offenbar aus den Lungen herausgeflimmertes Exemplar wurde noch im blutigen Schleim am Oesophagus gefunden.

Leber: Schon mit der Lupe sind auf der Oberfläche der Leber und besonders deutlich an deren scharfen Rändern einige helle Stellen von etwa einem halben Millimeter Größe zu erkennen; es sind „Rundzellenanhäufungen“ mit einem darin steckenden lebenden Wurm; beim Herausquetschen des Wurmest hatten ihm die Zellen fest an. Das größte gemessene Exemplar war eine heranwachsende Rhabdias von 2000 μ ; die kleineren, wahrscheinlich ebenfalls auf Rhabdias zu beziehenden Exemplare waren 1000—1350 μ lang. (Ein in einem festen, bindegewebigen, ca. 250 μ großen Knötchen steckender kleiner Nematode war offenbar kein Rhabdias; derartige „Wurmknötchen“ finden sich bei Fröschen häufig in der Leber und am Magendarmtraktus.) Die Untersuchung von gefärbten Schnittpräparaten zeigt, daß die Leber nur mäßig stark mit Würmern infiziert ist; die Mehrzahl der Wurmchnitte ist mit „Rundzellen“ (Lymphozyten, Fibroblasten, eosinophilen Leukozyten) umgeben.

Niere: In Quetschpräparaten von der einen Niere werden 3 lebende Rhabdias von ca. 1,5 mm Länge gesehen, die wie in der Leber von Rundzellen umgeben sind. Außerdem finden sich darin auch 2 kleine, ebenfalls von Rundzellen umgebene lebende Larven von etwa 600 μ Länge, die vielleicht nicht weiter entwickelte Rhabdias-Filariforme sind.

In gefärbten Schnittpräparaten durch die andere Niere wird ebenfalls ein von Lymphozyten usw. umgebener Wurm festgestellt.

Magendarmkanal: In der Muskularis des Magens und außen am Dünndarm werden eine Anzahl von „Zysten“ gefunden, die zum Teil Nematodenlarven — die aber keine Rhabdias sind — enthalten.

Milz: In der Milz werden keine Nematodenlarven gesehen.

1) Nach den Erfahrungen bei anderen perkutan infizierten Fröschen können sich die Rhabdias-Larven aber mindestens 17 Tage, wahrscheinlich aber sogar viele Wochen lang lebend und im wesentlichen unverändert in den oben beschriebenen „Wurmknötchen“ unter der Froshhaut halten.

Zusammenfassung: Auch 10 Tage nach perkutaner Infektion fanden sich noch unveränderte, wennschon anscheinend meist abgestorbene *Rhabdiasfilariforme* in aus Granulationsgewebe bestehenden Knötchen unter der Haut der Infektionsstelle. In Bauchhöhle, Leber, Nieren und Lunge werden erheblich herangewachsene *Rhabdias* festgestellt; die größten, über 3 mm langen Exemplare befanden sich in der Lunge.

3) Fütterung von *Rana esculenta* mit *Rhabdiasfilariformen* nach 11 Tagen.

25. 11. 27. Einem *rhandiasfreien* *Rana esculenta* werden zugleich mit zerhackten Schneckenweichteilen reichlich lebhaft bewegliche *Rhabdias-Filariforme* einer 7 Tage alten Kultur in den Magen gebracht. Die Mundhöhle des Frosches und ebenso seine Haut werden nach der „Zwangsfütterung“ gründlich mit Wasser gereinigt. Der Frosch wird isoliert im gut geheizten Zimmer aufgehoben.

6. 12. 27. 11 Tage nach der Larvenverfütterung wird der Frosch in Aethernarkose untersucht.

Haut: Im Bauchlymphsack kein Exsudat. In den Abstrichen von der Unterseite der Bauchhaut und der Oberseite der Bauchmuskulatur werden keine Nematodenlarven gefunden. Auch einige aus farblosen Zellen gebildete, unregelmäßige, kleine Konglomerate sind larvenfrei.

Bauchhöhle: Die Bauchhöhle wird unter Vermeidung von Blutungen weit geöffnet und gründlich ausgespült. In der Spülflüssigkeit finden sich mindestens 25 lebhafte *Rhabdias*; die gemessenen Exemplare waren 1700—2300 μ lang.

Lungen: In den Lungen werden 7 *Rhabdias* gefunden; sie messen 1100—2850 μ . Außerdem enthält die Lunge sehr zahlreiche Trematoden.

Leber: In Quetschpräparaten der Leber finden sich massenhaft zum Teil in Häutung, begriffene und von „Rundzellen“ umgebene Nematoden, von denen einige als *Rhabdias* bestimmt werden konnten; die gemessenen Exemplare waren 900—1800 μ lang.

In gefärbten Schnittpräparaten zeigt es sich, daß die im Lebergewebe liegenden Würmer außen von „Rundzellen“ umgeben sind. Bei manchen Wurmchnitten befindet sich aber zwischen dem Wurm selbst und den „Rundzellen“ eine Zone von großen, hellen, „epitheloiden“ Zellen, was an die Befunde späterer Tage (siehe S. 456) erinnert. Einige Würmer liegen auch innerhalb von Pfortaderaesten, und zwar teils ganz frei im Lumen, teils innerhalb von Zellanhäufungen, die den betreffenden Venenabschnitt ausfüllen (Tafel Fig. 5, 6, 7). (Außerdem ein ca. 250 μ großes, festes Wurmknötchen wie in der Leber des vorigen Frosches).

Niere: In der einen in Quetschpräparaten untersuchten Niere fanden sich 4 Nematoden, von denen 2 ca. 1500 μ lange Exemplare sicher (vielleicht aber auch die beiden anderen ca. 900 μ großen) *Rhabdias* sind.

In gefärbten Schnitten durch die andere Niere wird in einem großen Kanal am lateralen Nierenrande (vielleicht ist es der Urin und Samen abführende Ductus deferens) der Längsschnitt durch das Vorderende eines Wurmes — anscheinend eines *Rhabdias* — gefunden. Außerdem liegt ein Wurmchnitt innerhalb des Nierengewebes.

Magen: In der Abschabung von der Magenschleimhaut wird in einem lymphdrüsenähnlichen Gebilde eine kleine, nach dem Herausquetschen lebhaft bewegliche Wurmlarve gefunden, deren Zugehörigkeit zu *Rhabdias* zweifelhaft ist.

(Das Magenmesenterium wurde leider nicht untersucht).

Zusammenfassung: 11 Tage nach Verfütterung von *Rhabdiasfilariformen* finden sich erheblich herangewachsene Würmer in der Bauchhöhle, Lunge und Niere, und sehr reichlich besonders in der Leber, wo sie zum Teil in Pfortaderaesten liegen. Das größte gemessene Exemplar (2850 μ) befindet sich in der Lunge. Unter der Bauchhaut werden keine Nematoden gefunden.

4) Fütterung von *Rana esculenta* mit *Rhabdiasfilariformen* nach 21 Tagen.

25. 11. 27. Ein *rhabdiasfreier* *Rana esculenta* wird in der oben beschriebenen Weise mit „Schneckenfleisch“ und *Rhabdias-Filariformen* einer 7 Tage alten Kultur gefüttert und nach sorgsamer Abspülung im gut geheizten Zimmer isoliert.

16. 12. 27. 21 Tage nach der Larvenverfütterung wird der Frosch in Aethernarkose untersucht.

Haut: Bauchlymphsack ohne Exsudat. In den Abstrichen von der Unterseite der Bauchhaut und der Oberseite der Bauchmuskulatur werden keine Nematodenlarven gefunden. Auch einige aus farblosen Zellen gebildete kleine Konglomerate sind larvenfrei.

Bauchhöhle: Bauchhöhle wird unter Vermeidung von Blutungen weit geöffnet und gründlich ausgespült. In der Spülflüssigkeit werden 155 lebende *Rhabdias* gezählt, die meist gegen 1800 μ lang sind; das größte gemessene Exemplar war 2500 μ lang. Außerdem finden sich noch 7 nur 400—600 μ große, zum Teil in Häutung begriffene Nematodenlarven, bei denen es sich aber offenbar nicht um *Rhabdias* handelt.

Lungen: In der einen Lunge werden 2, in der anderen nur 1 *Rhabdias* gefunden, im ganzen also nur 3 Exemplare. Sie leben und messen 3000—3200 μ ; ihr Darm ist noch nicht mit Blut gefüllt.

Leber: Auf der Leberoberfläche sieht man bei Lupenbetrachtung weißliche, wie „vernarbte Stellen“ aussehende, kleine Striche. Nach der Untersuchung zahlreicher Quetschpräparate zu schließen, dürften in der ganzen Leber schätzungsweise vielleicht ein paar Dutzend Nematoden vorhanden sein. Sie stecken in einem ihnen auch beim Herausdrücken aus dem Lebergewebe fest anhaftenden Zellenmantel. Wenn schon ein Teil der Würmer leben, so sind doch viele abgestorben und bereits mehr oder weniger mazeriert. Die größten, von denen einige mit Sicherheit als *Rhabdias* erkannt werden, sind 2—3000 μ lang, doch werden auch mazerierte Exemplare von nur 500 μ gemessen.

Wie gefärbte Schnittpräparate zeigen, befindet sich um die Wurmschnitte zunächst eine breite Zone eigenartiger, großer, heller Zellen, die an der Peripherie von Lymphozyten, Leukozyten usw. und auch schon von Bindegewebe umgeben ist: Nach dem Urteil eines in pathologischer Anatomie erfahrenen Kollegen handelt es sich um vom Gewebe ausgehende epitheloide Zellen, zwischen denen auch Riesenzellen vorhanden sind, also um „pseudotuberkelähnliche“ Gebilde. Im Lumen von Pfortaderaesten befinden sich an einzelnen Stellen wurstförmige Gebilde, die anscheinend Cuticula-Reste von Würmern einschließen; wahrscheinlich sind sie unter Mitwirkung des Pfortaderendothels entstanden (Tafel Fig. 8).

Niere: In einer der Nieren werden in Quetschpräparaten 7 Nematodenlarven gefunden. Davon sind 5 offenbar *Rhabdias* von etwa 2—3000 μ ; bei einer 1000 und einer nur 600 μ langen Larve ist das nicht sicher. Ob alle Würmer lebten, konnte nicht festgestellt werden.

In gefärbten Schnitten durch die andere Niere wird ein von Rundzellen umgebener, 60 μ dicker Wurmdurchschnitt gesehen.

Magen: Am Magen selbst — der allerdings auch nur ungenau untersucht wurde — wird nichts besonderes gefunden. Dagegen befindet sich am Magenmesenterium ein lymphdrüsenähnlich aussehendes Gebilde, mit über einem Dutzend meist gegen 600 μ messender Nematodenlarven darin, die offenbar nicht weiter herangewachsene *Rhabdias*-Filariforme sind (Tafel Fig. 5). Die Larven sehen sehr gut erhalten aus, doch werden nur diejenigen Exemplare beweglich — und sogar sehr munter — die durch Deckglasdruck aus der sie umgebenden Zellmasse herausgedrückt sind.

Gehirn und Rückenmark: In Gehirn und Rückenmark werden (wie übrigens stets) keine Nematodenlarven gefunden.

Zusammenfassung: 21 Tage nach Verfütterung von *Rhabdias*-filariformen finden sich erheblich herangewachsene *Rhabdias* in Lunge, Leber und Niere, in weit größerer Anzahl jedoch in der freien Bauchhöhle. Inletzterer wurden 155 Exemplare gezählt, während von den überhaupt im Frosche nachweisbaren 200 nur 3 sich in der Lunge befanden. Das größte gemessene Exemplar wird in der Lunge gefunden, ist aber auch nur 3200 μ lang. In der Leber sind viele Würmer abgestorben. Unter der Bauchhaut werden keine Nematodenlarven gefunden, jedoch enthält ein einer Lymphdrüse ähnliches Gebilde am Magenmesenterium über 1 Dutzend offenbar lebender *Rhabdias*-filariformer.

Bemerkungen zu den Infektionsversuchen mit *Rhabdias*larven:

Aus den obigen und zahlreichen anderen, im wesentlichen damit übereinstimmenden Versuchen ergibt sich zunächst, daß die Lungeninfektion mit *Rhabdias* *bufonis* sowohl subkutan als auch per os beim Frosche möglich ist. Im einzelnen ist dazu folgendes zu bemerken:

a) Bemerkungen zur Perkutaninfektion: Die Sektionsbefunde bei perkutaner Infektion der Bauchhaut des Frosches lassen sich, wie bereits auf S. 451 angedeutet, sehr wohl mit der Annahme vereinigen, daß die *Rhabdias*-Filariformen zunächst mit dem Lymphstrom über die hinteren Lymphherzen zur Nierenpfortader und damit in die Nieren gelangen. Denn wie aus Versuch 1 hervorgeht, enthielt auch noch nach 24 Std. die Niere im Gegensatze zur Leber reichlich *Rhabdias*-Larven. In späteren Tagen nach der Perkutaninfektion ist ein derartiger Unterschied in der Larvenmenge zwischen Niere und Leber aber nicht mehr zu erwarten, weil die in den Nieren anfänglich festgehaltenen Larven diese allmählich verlassen werden, während andererseits vom Herzen her allen Organen in gleicher Weise durch die Arterien Larven zuströmen können. Denn ebenso wie *Strongyloides*-Filariforme und junge *Ascaris*-Larven werden voraussichtlich auch *Rhabdias*-Filariforme den Weg durch die Blutzirkulation zu wiederholten Malen machen können, bis sie allmählich zu groß dazu geworden sind (siehe hierzu Fülleborn, 1925).

In der Lunge fanden sich die *Rhabdias*-Filariformen nach einem hier nicht mitgeteilten Versuche schon ca. 4 Std. nach der Perkutaninfektion und sie mögen sogar noch früher dahin gelangen können. Ob sie in den Lungenarterien längere Zeit verweilen können, konnte nicht festgestellt werden, ist aber im Hinblick darauf, daß in der Pfortader erheblich herangewachsene *Rhabdias* gefunden werden, nicht auszuschließen. Die Lungenkapillaren des Frosches werden die *Rhabdias*-Larven aber nicht passieren können; denn bei dem Versuche, sich hindurchzuzwängen, werden sie durch die zarten Alveolarwände in die lufthaltigen Lungenalveolen ebenso hindurchbrechen, wie das bei *Strongyloides*-Larven in der Säugetierlunge nach den Versuchen von Fülleborn (l. c. 1925. S. 49—52) der Fall ist.

b) Bemerkungen zu der Infektion per os: Um möglichst naturgemäße Versuchsbedingungen zu schaffen, wurde das *Rhabdias*-Material zusammen mit Fleischnahrung in den Magen gebracht, und mit Hinblick darauf, daß Schnecken als „Transportwirte“ für *Rhabdias* in Betracht kommen (siehe S. 458) wurden meist Schneckenweichteile verfüttert.

Bei einem etwa 4 Std. nach der Materialverfütterung untersuchten Wasserfrosch fanden sich — ebenso wie gelegentlich auch nach älteren Infektionen — zwischen den Muskulaturschichten des Magens mehrere *Rhabdias*-Filariforme, und in der Leber wurde ebenfalls eine als *Rhabdias* angesprochene Larve gesehen, während die Nieren und auch die Lunge keine enthielten. Bei 2 Tage altem Material war die Lunge aber positiv; im Mageninhalt fanden sich um diese Zeit übrigens außer 2 Dutzend toten auch noch 2 lebende *Rhabdias*-Filariforme. Für die älteren Infektionen sind die oben mitgeteilten Sektionsbefunde vom 11. und 21. Tage charakteristisch.

Vom Magen gelangen zahlreiche *Rhabdias*-Filariforme offenbar zunächst zur Leber, und der Umstand, daß sie in Schnittpräparaten zum Teil innerhalb der Pfortaderverzweigungen nachweisbar sind, scheint dafür zu sprechen, daß sie mit der Blutbahn zur Leber transportiert werden, was voraussetzt, daß sie sich wie die *Ascaris*larven in die Venen des Magendarmkanals einbohren. Der Befund größerer Larvenmengen im Magenmesenterium (siehe Tafel Fig. 5) macht es andererseits aber wahrscheinlich, daß auch die Lymphbahnen für den Abtransport vom Magen in Betracht kommen. Von der Leber aus gelangen die *Rhabdias*-Larven dann wohl in derselben Weise zur Lunge, wie es für verfütterte *Strongyloides*-Filariforme und *Ascaris*-Larven erwiesen ist¹⁾ indem sie nach Passage durch die Leberkapillaren mit den Venae hepaticae zum Herzen und von dort mit dem Blutstrom zur Lunge getragen werden.

c) Ueber die zunehmende Ansammlung von *Rhabdias*larven in der freien Bauchhöhle des Frosches: Auffällig ist, daß sowohl nach perkutaner als auch nach per os-Infektion die Anzahl der in der freien Bauchhöhle gefundenen *Rhabdias* mit dem Alter der Infektion zunehmen scheint, und 21 Tage nach der Larvenverfütterung sogar über 150 Exemplare in der Bauchhöhle gezählt wurden (siehe S. 456). Ganz das gleiche ist aber, wie ich experimentell nachweisen konnte (siehe F. 1925. S. 34), auch bei *Ascaris lumbricoides* im Kaninchen der Fall und erklärt sich offenbar dadurch, daß beim Herumwandern in der Leber oder anderen infizierten Abdominalorganen zufällig in die freie Bauchhöhle geratene Würmer sich dort wie in einer „Falle“ ansammeln. Damit stimmt es auch überein, daß mit der Zunahme der *Rhabdias* in der freien Bauchhöhle ihre Anzahl in der Leber abzunehmen scheint.

d) Ueber das Heranwachsen von *Rhabdias* in den Organen von *Rana esculenta*: Hierzu ist zu bemerken, daß zwar die nach Perkutaninfektion unter der Haut und nach Verfütterung im Magenmesenterium in „Knötchen“ eingeschlossenen *Rhabdias*-Filariformen sich nicht weiter verändern, daß aber andererseits viele der innerhalb der ersten 3 Wochen in Niere, Leber oder der freien Bauchhöhle gefundenen *Rhabdias* fast ebensoweit herangewachsen sind, als die in der Lunge befindlichen Exemplare.

1) Siehe hierzu Fülleborn, 1925.

III. Biologische Schlußfolgerungen aus den Befunden bei experimenteller Rhabdiasinfektion.

Grasfrösche und Kröten werden häufiger Gelegenheit finden, sich durch Berührung mit Rhabdias-Filariformen enthaltender Erde perkutan zu infizieren, als der im Wasser lebende *Rana esculenta*, der ja auch seltener mit dem Parasiten behaftet ist. Der Frosch wird sich aber auch per os infizieren können, wenn er ein Beutetier frißt, das zufällig Rhabdias-Filariforme beherbergt. Letzteres kann, z. B. wie schon Leuckart wußte (l. c. Bd. 2. S. 146), bei Schnecken der Fall sein¹⁾. Ebenso wird sich der — bekanntlich kannibalischen Gewohnheiten huldigende — Wasserfrosch aber vielleicht auch dadurch mit Rhabdias infizieren können, daß er einen kleineren Frosch verschlingt, wenn dieser von einer früheren Rhabdias-Infektion her Knötchen mit noch lebenden Filariformen unter der Haut oder im Magen-Mesenterium beherbergt. Die Bildung dieser, die Rhabdias-Filariformen eine Zeitlang konservierenden Knötchen, könnte also sehr wohl der Verbreitung des Parasiten dienlich sein: Speziell bei den in Schlangen parasitierenden Rhabdias-Arten ist die Infektion vielleicht überhaupt nur durch verschluckte, die Filariformen dieser Schlangen-Rhabdias beherbergenden Frösche möglich, da die stark verhornte Schlangen-Epidermis eine Perkutaninfektion erschweren wird, während sich andererseits auch die Filariformen der Schlangen-Rhabdias oft genug in die Haut des Frosches „verirren“ werden, ob schon sie im Frosche nicht ausreifen können.

Daß junge Nematodenlarven innerhalb von Gewebsknötchen sehr lange Zeit lebend und unverändert bleiben, ist häufig der Fall, und speziell für *Belascaris marginata* — jetzt *Toxocara canis* — des Hundes konnte ich (l. c. 1921) nachweisen, daß dessen Larven sich nach Verfütterung der sie beherbergenden Organknötchen noch genau so verhalten, wie die eben ihren Eiern entschlüpften Larven des Parasiten; d. h. auch bei dem neuen Wirt dringen die Larven nach Verdauung des Wurmknötchens wiederum in die Wandungen des Magendarmkanals ein und werden dann mit der Zirkulation weiter transportiert. Daß das auch für die in Knötchen eingeschlossenen Rhabdiasfilariformen gilt, ist sehr wohl möglich, muß aber noch experimentell geprüft werden, da z. B. *Strongyloides*-Filariforme — die allerdings auch nicht in „Knötchen“ eingeschlossen werden — durch den Aufenthalt im Wirtsgewebe ihr Bohrvermögen einbüßen (Fülleborn, 1925).

Die Bildung der die WurmLARVEN in infektionsfähigem Zustande konservierenden, für den Parasiten also „zweckmäßigen“ Gewebsknötchen, kommt zwar unter dem Reize des Parasiten als Fremdkörper zustande, geht aber von den Zellen des Wirtes aus: Wir können die Knötchenbildung mithin als einen einfachen, und auch „mechanisch“ noch verständlichen Fall von „fremddienlicher Zweckmäßigkeit“ auffassen, die bei den Gallen der Pflanzen zu so rätselhaften Anpassungen des Wirtes an die Erfordernisse des Parasiten führt.

Im Gegensatz zu den eben besprochenen, in den Knötchen der Haut oder des Mesenteriums unverändert gebliebenen Rhabdias-Filariformen, werden diejenigen Exemplare, die in Leber, Niere usw. auf über 2 mm herangewachsen sind, im Falle einer Verfütterung aber nicht mehr zu einer Infektion des neuen Wirtes führen können, sondern sie werden in dessen Magendarmkanal zugrunde gehen: Denn es ist sehr unwahrscheinlich, daß so große Parasiten — selbst wenn sie sich noch in die Magenwandungen einbohren würden — noch mit der Zirkulation zur Lunge gelangen können, die ja das einzige Organ ist, in dem Rhabdias geschlechtsreif werden kann.

1) Einmal traf ich sogar noch 3 Monate nach der Infektion der Schnecken eine lebende Rhabdias-Filariforme darin an; doch war das offenbar eine ganz seltene Ausnahme, indem die große Mehrzahl der eingedrungenen Rhabdias-Larven schon viel früher aus den Schnecken wieder verschwindet.

Wenn aber *Rhabdias* ein nicht nur in der Lunge ausreifender Parasit wäre, sondern ebenso wie der ihm nahe verwandte *Strongyloides stercoralis* außer in den Luftwegen auch im Magendarmkanal geschlechtsreif werden würde, so müßte durch Verfütterung von in der Leber und anderen Organen weiter herangereiften *Rhabdias*-Exemplaren offenbar eine Darminfektion des neuen Wirtes möglich sein, da sich nach meinen Versuchen (F. 1927) auch *Strongyloides stercoralis* durch im „Zwischenwirt“ weiter entwickelte Larven auf den Darm des „definitiven Wirtes“ übertragen läßt: Wir hätten im Prinzip dann denselben Infektionsmodus, wie wir ihn bei manchen Wasservögeln finden, die ihren Darmkanal durch in Leber und anderen Organen ihrer Beutetiere eingekapselte Askaridenlarven infizieren.

Wennschon also für *Rhabdias* — weil er ausschließlich in der Lunge und nicht auch im Darme geschlechtsreif werden kann — das Heranwachsen in der Leber usw. „zwecklos“ ist, so kann sich doch durch denselben, ursprünglich „rein zufälligen“ Vorgang für solche Nematoden, die im Darme ausreifen, ein wirksamer Uebertragungsmodus anbahnen.

Bei *Rhabdias bufonis* haben die in Leber und Nieren des Frosches weiter herangewachsenen Exemplare ihre Rolle für die Weiterverbreitung des Parasiten aber überhaupt ausgespielt, denn sie gehen innerhalb des sie umgebenden neugebildeten Wirtsgewebes nach einiger Zeit nachweislich zugrunde, und die Versuche boten auch keinen Anhalt dafür, daß etwa die in der freien Bauchhöhle des Frosches sich in den späteren Tagen nach der Infektion so massenhaft ansammelnden Würmer (siehe S. 457) noch zur Lunge gelangen können.

Daß zahlreiche Larven, die nach dem Eindringen in die Haut oder in die Wandungen des Magendarmkanals mit der Zirkulation weiter geführt werden, niemals das Organ, in dem sie ausreifen können, erreichen, kommt aber nicht nur bei *Rhabdias* vor, sondern ist auch bei anderen auf diesem Wege infizierenden Helminthen die Regel: d. h. der Infektionsweg durch die Zirkulation ist vom Standpunkte des Parasiten betrachtet, durchaus nicht ein „idealer“.

Immerhin war es auffällig, daß z. B. von über 200 am 21. Tage nach der Infektion in einem Wasserfrosche nachweisbaren *Rhabdias* nur 3 Exemplare sich in der Lunge befanden (siehe S. 456), und da ich ferner bei *Rana esculenta* nach experimenteller Infektion auch niemals völlige Ausreifung in der Lunge beobachtete — während die Lungen von *Rana temporaria* danach gelegentlich sogar sehr stark mit reifen *Rhabdias* infiziert waren — so ist es nicht von der Hand zu weisen, daß der Wasserfrosch ein für die Entwicklung von *Rhabdias bufonis* weniger geeigneter Wirt sein mag als der Grasfrosch.

Letzteres könnte damit zusammenhängen, daß der Grasfrosch sich unter natürlichen Bedingungen weit häufiger als der Wasserfrosch mit *Rhabdias* infizieren wird und der Parasit daher mehr Gelegenheit gehabt hat, sich an ersteren „anzupassen“. Eine bessere Anpassung von *Rhabdias bufonis* an *R. temporaria* würde es aber nicht nur verständlich machen, daß der Parasit in dessen Lunge häufiger als in der von *R. esculenta* zur vollen Geschlechtsreife gelangt, sondern es ist sehr wohl möglich, daß durch die bessere Anpassung des Parasiten an den Wirt auch eine relativ größere Anzahl der in den Froschkörper eingebrungenen *Rhabdias*-Exemplare sich speziell in der Lunge festsetzt.

Denn wie ich anderenorts ausgeführt habe (F. 1923), werden die mit der Zirkulation „zufällig“ in das „Organ der Ausreifung“ eingeschwemmte Larven offenbar dadurch darin zurückgehalten, daß durch von jenem Organ ausgehende chemotaktische Einwirkungen ihr Bewegungs- und Bohrvermögen so stark verringert wird, daß sie darin eher als in anderen Organen liegen bleiben. Bei *Rana esculenta* war aber eine Verringerung des Bohrvermögens der *Rhabdias*-filariformen innerhalb der Lunge experimentell jedenfalls nicht nachweisbar (da mit der Pipette durch die Glottisspalte in dessen Lunge gebrachte Larven am nächsten Tage zum größten Teil in der freien Bauchhöhle gefunden wurden) und manches sprach sogar dafür, daß auch bereits in der Wasserfroschlunge weiter herangewachsene *Rhabdias*-Exemplare sich zum Teil von dort in die Bauchhöhle ausbohrten. Es wäre interessant, diese Versuche mit *Rana temporaria* zu wiederholen, wozu ich leider keine Gelegenheit hatte.

Zusammenfassung der Hauptergebnisse:

1) Gleich den filariformen Larven anderer *Rhabdias*-Arten stecken auch die von *Rhabdias bufonis* in einer lockeren Larvenhaut; beim Eindringen der Larve in die Froshhaut bleibt sie auf deren Oberfläche zurück. Die Larven sind sehr Sauerstoffbedürftig, besitzen negative Rheotaxis und auch eine, allerdings nur wenig ausgesprochene positive Thermotaxis (obschon letztere das Eindringen in die Haut des Kaltblüters nicht begünstigen kann).

2) Der Frosch läßt sich mit den Filariformen von *Rhabdias bufonis* sowohl perkutan als auch per os infizieren; letzteres wäre unter natürlichen Bedingungen möglich, wenn der Frosch z. B. eine Schnecke frißt, in die sich *Rhabdias*-Filariforme nicht nur einbohren, sondern in denen sie sich auch wochenlang unverändert halten können.

3) Ebenso wie unter die Haut gespritzte *Lycopodium*-Körnchen und vorher abgetötete *Strongyloides*-Filariforme gelangen auch die lebenden *Rhabdias*-Larven bei perkutaner Infektion der Bauchhaut aus dem darunter gelegenen großen Lymphsack nach Passage durch die hinteren Lymphherzen mit dem Blutstrom der Nierenpfortader zunächst in die Niere und von dort mit dem Blute durch das Herz teilweise zur Lunge, dem einzigen Organ in dem sie ausreifen können. Sehr viele Larven bleiben aber, mit dem Blutstrom verschleppt, in anderen Organen stecken, z. B. in Niere und Leber (oder sie geraten in die freie Bauchhöhle), wo sie zwar auch von ca. 600 μ auf über 2 mm heranwachsen können, schließlich aber innerhalb von sie umschließenden Knötchen neugebildeten Granulationsgewebes zugrunde gehen.

4) Bei der Infektion per os wandern die *Rhabdias*-Larven offenbar nicht — wie Leuckart annahm — aus dem Froshmaule durch die Glottisspalte direkt in die Lunge ein, sondern sie verhalten sich wie verfütterte Filariforme von *Strongyloides stercoralis* (bzw. die Larven ausgereifter *Ascaris*-Eier) indem sie sich in die Magenwände einbohren und mit der Zirkulation zunächst zur Leber und von dort weiter zur Lunge gelangen; die in der Leber stecken gebliebenen zahlreichen Exemplare liegen zum Teil im Gewebe, zum Teil aber auch frei im Lumen von Pfortaderaesten, wo sie nach erheblichem Wachstum aber schließlich ebenfalls innerhalb von neugebildetem Gewebe resorbiert werden.

5) Während, wie bereits erwähnt, die *Rhabdias*-Larven auch außerhalb der Lunge in den Organen (bzw. in der Bauchhöhle) des Frosches sehr erheblich heranwachsen, ist es auffällig, daß sie sich unter gewissen Bedingungen überhaupt niemals weiter entwickeln, sondern im unveränderten Stadium der Filariformen verharren. Man findet nämlich nach Perkutaninfektion unter der infizierten Hautstelle — und nach Infektion per os im Mesenterium des Magens — auch in späteren Tagen der Infektion unveränderte Filariforme, und zwar stets innerhalb von Rundzellenanhäufungen, die ähnlich wie Lymphknoten aussehen, beim normalen Frosche aber zu fehlen scheinen; so lange die Würmer von diesen Zellhaufen umschlossen werden, sind sie unbeweglich, zeigen aber nach dem Herausdrücken die für die Filariformen charakteristischen Bohrbewegungen.

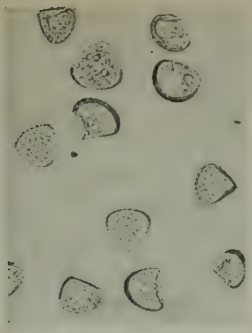


Fig. 1. Semen-Lycopodium-Körnchen in Kanadabalsam; mikrophot. 200:1.

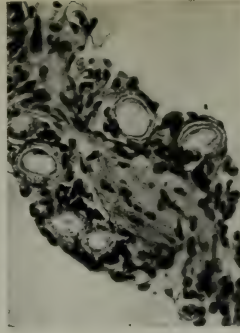


Fig. 2. Lycopodiumkörnchen nach Einspritzung unter die Haut im gefärbten Lungenschnitt; mikrophot. 200:1.

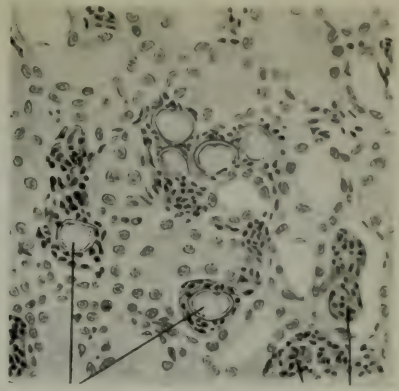


Fig. 3. 2 Lycopodiumkörnchen deutlich innerhalb der Blutbahn (darüber Gruppe von 4 anderen Körnern). [Glomerulus]



Fig. 4.

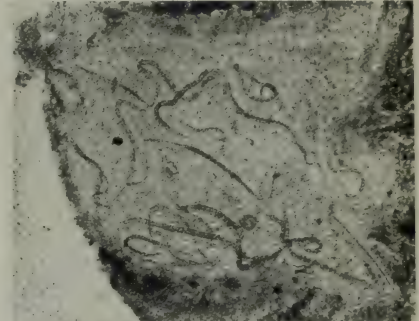


Fig. 5.

Fig. 4 und 5. Unveränderte Rhabdias-Filariforme in „Lymphdrüsen-ähnlichen“ Gebilden; frisch mikrophot. 30:1.

Fig. 4. Unter der Haut, 10 Tage nach Percutan-Infektion des Frosches.

Fig. 5. Im Magen-Mesenterium, 21 Tage nach Verfütterung an den Frosch.

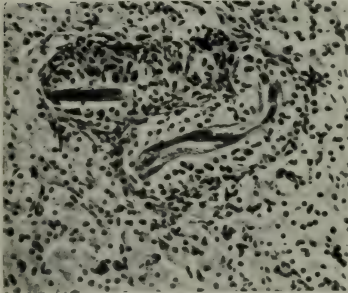


Fig. 5.

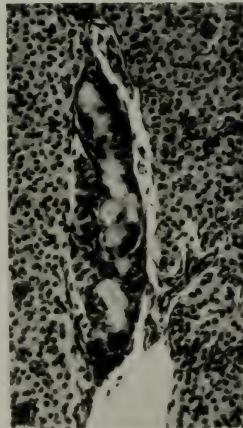


Fig. 8.

Fig. 5-8. In der Froschleber herangewachsene Rhabdias; Hämatoxylin-Eosin, mikrophot. 100:1.

Fig. 5, 6, 7. 11 Tage nach Verfütterung in Gewebeknötchen oder frei in Pfortaderästen.

Fig. 8. 21 Tage nach Verfütterung innerhalb der Pfortader von neugebildetem Gewebe umgeben (abgestorben und in Resorption).

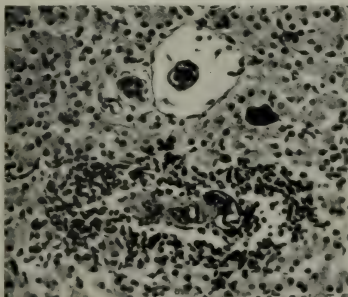


Fig. 6.

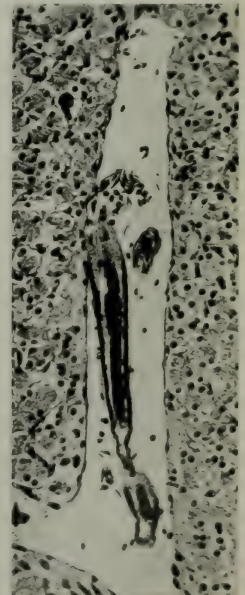
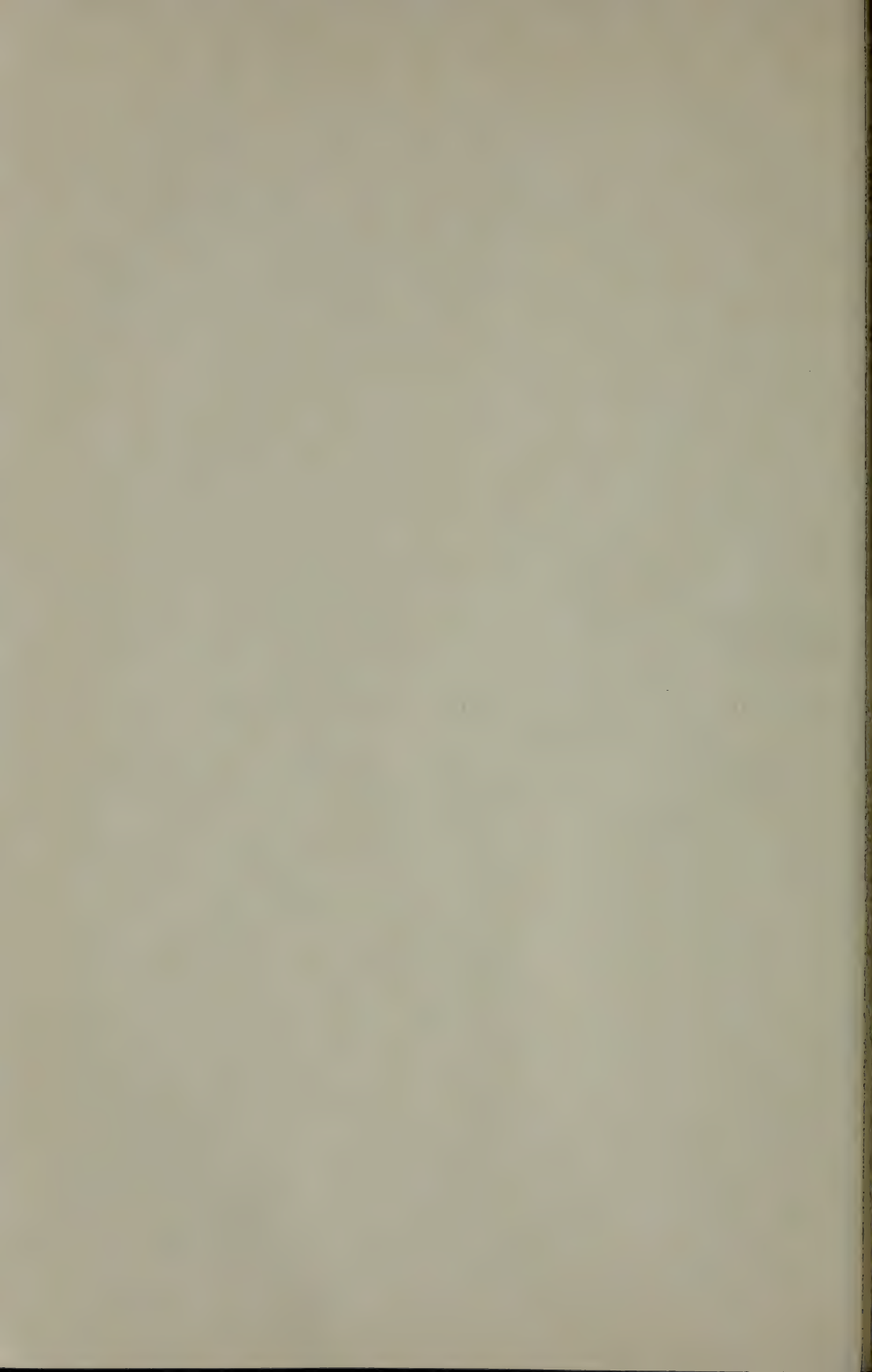


Fig. 7.



In den Magen eines Frosches gebracht würden sich diese *Rhabdias*-Larven wahrscheinlich analog verhalten, wie die innerhalb von Gewebsknötchen des Wirtes ebenfalls den Charakter der noch bohrfähigen jungen Stadien bewahrenden Larven von *Belascaris marginata* (jetzt *Toxocara canis*) des Hundes, d. h. sie würden in die Magenwände des Frosches eindringen und von dort via Leber zur Lunge gelangen können. Ebenso wie nachweislich bei *Belascaris marginata* mag also auch bei *Rhabdias bufonis* eine Infektion durch „Zwischenwirt“ — oder besser „Transportwirt“ — möglich sein: z. B. wenn ein größerer Frosch einen kleineren, der Träger solcher *R. bufonis*-Filariformen ist, verschlingt oder wenn eine Ringelnatter einen Frosch frißt, dem sich früher Filariforme des in der Ringelnatterlunge ausreifenden *R. fusco-venosa* in die Haut gebohrt haben. Da die harte Schlangenhaut für *Rhabdias*-Larven schwer durchdringlich sein wird, mag die Infektion der Schlangen vielleicht überhaupt nur auf diesem Umwege stattfinden. (Da solche die Wurmlarven für spätere Infektionsgelegenheiten konservierenden Zellanhäufungen für die Verbreitung des Parasiten von Nutzen sein können, kann man deren Bildung durch den Wirt auch als ein einfaches und auch „mechanisch“ noch verständliches Beispiel von „fremddienlicher Zweckmäßigkeit“ analog den Pflanzengallen auffassen).

6) Da bei den experimentall infizierten *Rana esculenta* im Gegensatz zu *R. temporaria* niemals vollständige Geschlechtsreife von *Rhabdias bufonis* in der Lunge gesehen wurde, mag sich der Parasit an den ja auch häufiger natürlicher Infektion ausgesetzten Grasfrosch besser angepaßt haben, als an den Wasserfrosch. Auch der auffallend geringe Prozentsatz der mit experimenteller Infektion bei *R. esculenta*, speziell in der Lunge im Gegensatz zu denen anderen Organen gefundenen *Rhabdias* mag mit mangelhafter Anpassung an diesen Wirt zusammenhängen; jedenfalls bohren sich *Rhabdias*-Exemplare aus der Wasserfroschlunge in die Bauchhöhle aus, während andererseits Grund zu der Annahme vorhanden ist, daß gut angepaßte Parasiten in dem „Organ der Ausreifung“ infolge davon ausgehender chemotaktischer Wirkungen verbleiben.

Literatur.

- 1) Fülleborn, F., Untersuchungen über die chemotaktische Wirkung der Malpighischen Gefäße von Stechmücken auf Hundemikrofilarien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 65. 1912. S. 349.) — 2) Ders., Untersuchungen über den Infektionsweg bei *Strongyloides* und *Ankylostoma* und die Biologie dieser Parasiten. (Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. 18. 1914. Beih. 5.) — 3) Ders., Perkutane Infektion bei *Angiostomena nigrovenosum*. (Ebenda. Bd. 24. 1920. S. 176.) — 4) Ders., *Ascaris*-Infektion durch Verzehren eingekapselter Larven u. über gelungene intrauterine *Ascaris*-Infektion. (Ebenda. Bd. 25. 1921. S. 367—375.) — 5) Ders., Biologische Erwägungen über die Wanderung der Larven parasitierender Nematoden im Körper des Wirtes. (Ebenda. Bd. 27. 1923. S. 44—452.) — 6) Ders., Ueber „Taxis“ (Tropismus) bei *Strongyloides*- u. *Ankylostomen*larven. (Ebenda. Bd. 28. 1924. S. 144—165.) — 7) Ders., The wandering of certain nematode larvae in the body of their hosts. (Journ. of Parasitol. Vol. 19. 1904. p. 98—99.) — 8) Ders., Ueber die Durchlässigkeit der Kapillaren für Nematodenlarven usw. (Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. 29. 1925. Beih. 3.) — 9) Ders., Ueber das Verhalten der Larven von *Strongyloides stercoralis*, Hakenwürmern und *Ascaris lumbricoides* im Körper des Wirtes usw. (Ebenda. Bd. 31. 1927. Beih. 2.) — 10) Gaup, E., Ecker-Wiedersheim, Anatomie des Frosches. 2. Abt. II. Aufl. 1899. — 11) Goodey, T., The anatomy and life history of the nematode *Rhabdias fuscovenosa*

(Railliet) from the grass snake *Tropidonotus natrix*. (Journ. of Helminthol. Vol. 2. **1924(a)** p. 51—64.) — 12) Ders., Two new species of the nematode genus *Rhabdias*. (Ibid. Vol. 2. **1924(b)** p. 203—208.) — 13) Kosuge, I., Wie weit wirken bei dem Eindringen von *Strongyloides*-Larven und anderen parasitischen Nematoden in das Gewebe spezifische Reize? (Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. 28. **1924**. S. 179—187.) — 14) Leuckart, Rudolf, Die menschlichen Parasiten und die von ihnen herzuführenden Krankheiten. Leipzig u. Heidelberg. I. Aufl. **1863—1876**. — 15) Schwartz, Benjamin, Preparasitic stages in the life history of the cattle hookworm (*Bunostomum phlebotomum*). (Journ. of Agric. Research (Washington). Vol. 39. **1924**. p. 451—458). — 16) Travassos, Lauro, Entwicklung des *Rhabdias fülleborni* n. sp. (Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. 30. **1926**. S. 594—602).

Nachdruck verboten.

Studies on heterogeneous anaphylaxis.

[From Microbiological Institute for scientific research Moscow. (Direktor: Prof. I. L. Kritschewsky).]

By Privatdozent **K. A. Friede**.

In 1915—1917 the contents of heterogeneous sheep antigen in red blood corpuscles of the hen and heterogeneous hen antigen in red blood corpuscles of the sheep was found by Kritschewsky^{1), 2)}.

In 1916 the existence of heterogeneous cellular anaphylaxis was set by the same author³⁾. The arrangement of the experiment which was adapted by Kritschewsky for the discovering of the phenomenon's heterogeneous anaphylaxis was the following:

Kritschewsky sensibilised rabbits with hen red blood corpuscles and by introducing sheep red blood corpuscles in the vein of these animals he got an anaphylaxis shock.

The inverse arrangement of the experiment — the sensibilisation with the sheep's red blood corpuscles and getting the shock by introducing hen's red blood corpuscles the author did not succeed because the hen's red blood corpuscles being taken in the quantity which is necessary to introduce by the anaphylaxis test are of an eminent toxicity for rabbits.

On Kritschewsky's opinion the realization of heterogeneous cellular anaphylaxis is a decisive argument which confirms the reality of the existence of cellular anaphylaxis in general: so by the test with red blood corpuscles of an removed kind of animals (but not by these by which the sensibilisation was made) it is excluded the possibility to refer the anaphylaxis shock on the account of the sensibilisation and test not with red blood corpuscles, but with those traces of serum which could remain adsorbed on red blood corpuscles in spite of washing them with physiological salt solution.

Schiff and Moore⁴⁾ made such objection against the existence of cellular anaphylaxis by rabbits: thus they brought the anaphylaxis shock by the sensibilisation and test with red blood corpuscles to the long and well known serum anaphylaxis.

In 1914, two years before Kritschewsky, the phenomenon of heterogeneous anaphylaxis was discovered by Amaco⁵⁾, who adapted, however, quite another arrangement of the experiment: the sensibilisation by organs of animals

1) Kritschewsky, Journ. of experim. Med. Vol. 24. 1916; and Russ. Physician. 1915.

2) Kritschewsky, Med. Rev. 1917. No. 13—16; and Ztschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 36. 1923.

3) Kritschewsky, Russ. Phys. 1916. No. 39; and Journ. of Inf. Dis. Vol. 32. 1923.

4) Schiff und Moore, Ztschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 22. 1914.

5) Amaco, Ztschr. f. Immunitätsforsch. Ibidem.

containing heterogeneous sheep antigen and the test with sheep red blood corpuscles¹⁾).

In view of our acquaintance with the mentioned literature on this question, we were extremely astonished by the appearance of Roscoe R. Hyde's work²⁾ in the *Journal of Immunology* in the year 1926 (10 years later), discovering again the same phenomenon of heterogeneous cellular anaphylaxis.

The author used Kritschewsky's method and sensibilising rabbits with hens' red blood corpuscles and introducing in their vein red blood corpuscles of a sheep, he obtained a deadly anaphylaxis shock by those animals.

But the author absolutely did not mention whose method he used and whose experiments he repeated, although Kritschewsky's work³⁾, as it is seen from the further text, was well known to him.

Moreover: on the basis of his work the author put the fact, which had been also discovered by Kritschewsky: the coming to life of hemolysins in regard to red blood corpuscles of a sheep by immunisation rabbits with red blood corpuscles of a hen. The author ascribed the discovery of this fact to himself⁴⁾.

The author arranged the experiments in the second modification, which also belongs to Kritschewsky: sensibilising rabbits with red blood corpuscles of a sheep and using for the test red blood corpuscles of a hen.

As Kritschewsky, the author did not succeed in obtaining the anaphylaxis shock by such arrangement of the experiment.

Finally R. Hyde, wishing obviously to bring in the work, at least, something of his own passed over to the experiments on guinea pig.

And here in the independent part of the work begin the pieces which are not easy to understand.

Let us begin from the choice of animals for the experiment: we must consider the choice as an extremely unsuccessful one. The author wished to study the phenomenon of the heterogeneous anaphylaxis, but to obtain heterogeneous anaphylaxis it is necessary to have heterogeneous antibodies.

We know from the works of the following authors: Forssman⁵⁾, Amaco⁶⁾, Doerr and Pick⁷⁾, Tsuneoka⁸⁾, Friede⁹⁾ and at last from the author himself¹⁰⁾ that the animals from „Meerschweincentypus“ (to which the guinea pig belongs) are incapable to produce heterogeneous antibodies.

A priori, it is clear, that a guinea pig is absolutely unfit as an object for getting heterogeneous anaphylaxis.

And really, in contrast to rabbits the author did not get the anaphylaxis shock with guinea pigs sensibilising them with hens' red blood corpuscles and testing them with red blood corpuscles of a sheep.

1) Amaco's work became known to Kritschewsky only in 1919, when after the war U.S.S.R. began to receive again the foreign literature.

2) Roscoe Hyde, R., *Journ. Immunol.* Vol. 12. 1926.

3) Kritschewsky, *Journ. inf. Dis.* Vol. 32. 1923.

4) Kritschewsky, *Journ. exper. Med.* Vol. 24. 1916; and *Russ. Physician.* 1915.

5) Forssman, *Biochem. Ztschr.* Bd. 77. 1916.

6) Amaco, *Ztschr. f. Immunitätsforsch.* Bd. 22. 1914.

7) Doerr und Pick, *Biochem. Ztschr.* Bd. 60. 1914.

8) Tsuneoka, *Ztschr. f. Immunitätsforsch.* Bd. 22. 1914.

9) Friede, *Centrabl. f. Bakt.* Bd. 26. 1925; and *Journ. Microbiol. and Inf. Dis.* [Russ.]. Vol. 1. 1924.

10) Roscoe Hyde, R., *Americ. Journ. Hyg.* Vol. 5. 1925.

It must be remarked, that also this work has a little strange character in one of its parts: the author arranged experiments already done by Kritschewsky 10 years before him (the mentioned Hyde's work was published in 1925 but Kritschewsky's work in 1915—1917 in Russian languages, in 1916 and 1923 in English languages); the author mentioned only slightly in a remark, that after he had finished his work, he learned that Kritschewsky received the same results.

However, sensibilising guinea pigs with sheep red blood corpuscles and introducing hen's red blood corpuscles in these animals, the author obtained a deadly anaphylaxis shock — the heterogeneous anaphylaxis, according to Hyde's opinion, seems accomplishable at guinea pigs. But the author, appreciating the results of his experiment, made a mistake which Kritschewsky by the appreciation of the results of similar experiments on rabbits avoided in time.

Kritschewsky noticed that the hen's red blood corpuscles have the primary toxicity for rabbits: the latter already, sometimes, at the first introduction of these red blood corpuscles obtain shock which is alike the anaphylaxis shock clinical as well as pathology-anatomical.

Therefore he was very careful appreciating the results which he obtained by the attempts to get the anaphylaxis shock introducing hen's red blood corpuscles in the vein of rabbits which were sensibilised with sheep red blood corpuscles.

Hyde did not show such carefulness by the appreciation of the results of the experiments the death of guinea pigs, which took place, as it seemed in consequence of the introducing of toxicical for them hen's red blood corpuscles and he considered this fact as the death from an anaphylaxis shock.

The author did not give corresponding controls but in his own work there are indications that red blood corpuscles of the hen are toxicical for guinea pigs.

Extremely unsuccessful are to be considered also the controlling experiments on guinea pigs arranged by R. Hyde for the purpose to show that the traces of the serum, which remain on red blood corpuscles do not matter by the sensibilisation and shock at the cellular anaphylaxis (this idea entirely belongs to Kritschewsky and was published by him still in 1916 as we mentioned above).

The guinea pig which belongs to „Meerschweinchentypus“ is not fit, as it is clear, to be an object also for the heterogeneous serum anaphylaxis.

We think, we have not to dwell on the independent part of R. Hyde's work as well as on the author's attempts of his taking the theme of his work from Kritschewsky and to discuss with the latter and to ascribe to himself the discovering of the phenomenon of the heterogeneous cellular anaphylaxis (the author absolutely does not mention anywhere about Amaco's work!)

We have only to wonder to the author, because it is known that Kritschewsky's works were published not only in Russian and German but an English languages, in American Journals.

Nachdruck verboten.

Beitrag zur Kenntnis der Desinfektionswirkung der Metallsalze.

I. Teil.

Desinfektion und Entwicklungshemmung bei Kupfersalzen.

[Aus dem mikrobiologischen Institut der Universität in Brünn (Vorstand:
Prof. Dr. J. Kabelík).]

Von Dr. **J. Vignati** und Med. cand. **P. Schnabel**.

In der Literatur findet sich eine ganze Reihe von Mitteilungen über die Desinfektionswirkung der Kupfersalze auf verschiedene Bakterien. In letzter Zeit beschäftigte sich damit eingehend Mittelbach (Centralbl. f. Bakt. Abt. I.

Orig. Bd. 86. S. 44), und in seiner Arbeit finden wir auch die nötigen Literaturangaben. Das Kupfer bewährte sich in Laboratoriumsversuchen sehr gut. Wie aus der Mittelbachschen Arbeit ersichtlich, führen schon Verdünnungen der Kupfersalze von 1:1 Million das Absterben der Bakterien innerhalb von 8—12 Std. herbei. In unseren Versuchen, in denen wir die Mittelbachsche Arbeit nachprüften, ist hierzu eine längere Zeit, manchmal auch 24 Std. und mehr, notwendig, da die Empfindlichkeit der Bakterien je nach dem verwendeten Stamm und Kupferpräparat bedeutend schwankt. Im allgemeinen können wir die Mittelbachschen Resultate bestätigen.

In der Desinfektion durch Metallsalze ist auf Grund bisheriger Erfahrungen zwischen Entwicklungshemmung und Abtöten der Bakterien zu unterscheiden. Die Entwicklungshemmung äußert sich durch Verlust der Vermehrungsfähigkeit, die unter günstigen Bedingungen noch wiederkehren kann. Unter der Abtötung oder Desinfektion der Bakterien ist ein definitiver Zustand wahrscheinlich das Endresultat chemischer Vorgänge, die sich im Bakterienleibe abgespielt haben, zu verstehen. Diese Vorgänge können wir heute noch schwer auseinanderhalten, da der eine manchmal nur die Vorstufe des zweiten bildet. Trotzdem fehlt es nicht an Versuchen zur Feststellung des Grades, in welchem wir die Bakterien für abgetötet oder in ihrer Entwicklung gehemmt ansehen können. Auf Grund der Versuche von Müller und Rodewald empfiehlt Hahn (Ztschr. f. Hyg. Bd. 98. S. 569) das Auswaschen der desinfizierten Bakterien in destilliertem Wasser oder physiolog. Kochsalzlösung. Die abgetöteten Bakterien vermehren sich nicht mehr nach der Ueberimpfung, dagegen lassen sich diejenigen, welche sich in Entwicklungshemmung befinden, durch diesen Vorgang wiederbeleben und gewinnen ihre Vermehrungsfähigkeit wieder. Die Versuche von Liese und Mendel (Ztschr. f. Hyg. Bd. 100. S. 454) bestätigen uns die Richtigkeit des Hahnschen Verfahrens. Dieselben führen das Auswaschen vor dem Tierversuch oder der Kultivierung ein. Bei diesen Versuchen gehen die Autoren von der Ansicht aus, daß das adsorbierte Desinfektionsmittel an der Bakterienoberfläche sich durch diesen rein mechanischen Vorgang beseitigen läßt.

In unseren Versuchen widmeten wir das Hauptaugenmerk gerade diesen Vorgängen, welche wir einem eingehenden Studium unterzogen. Unsere Arbeit bewegte sich in zwei Richtungen: wir untersuchten die Desinfektionswirkung von Kupfersalzen, wobei unser Streben dahinging, das Abtöten der Bakterien von der Entwicklungshemmung mit größtmöglicher Wahrscheinlichkeit zu trennen. In zweiter Linie handelte es sich um die Feststellung der chemischen oder physikalischen Natur dieser Vorgänge. Die Entwicklungshemmung wird meistens als eine reine Adsorption aufgefaßt, also für einen sich oberflächlich abspielenden Prozeß angesehen ohne jederlei Veränderungen des Bakterienleibes. Hiermit erscheint die Möglichkeit einer mechanischen Entgiftung durch das Auswaschen in dest. Wasser oder in physiolog. Kochsalzlösung gegeben. Es kann aber auch auf diesem Wege zur Störung des Adsorptionsgleichgewichtes zwischen dem Desinfektionsmittel und den an der Bakterienoberfläche adsorbierten Ionen kommen. Falls sich dieselben in reversibler Bindung befinden, kehren sie wieder in Lösung zurück (Bechhold, Die Kolloide in Biologie und Medizin 1912). Die Wichtigkeit dieses mechanischen Momentes, welches zu irriger Beurteilung der Desinfektionsmittel führen könnte, wurde in unserer Arbeit vollkommen anerkannt. Es wurde geprüft, wie weit es möglich ist, durch diesen mechanischen Eingriff die Adsorption der Kupfersalze zu beeinflussen. Der Versuch wurde mit *B. coli*-Emulsion durchgeführt, die aus einem aus normalen Stuhl isolierten *Coli*-Stamm hergestellt wurde, in der Konzentration einer leicht getrübbten Bouillon. Als Desinfektionsmittel haben wir eine

10proz. Kupfersulfatlösung in fallenden Konzentrationen angewendet, wobei immer im Verhältnis 1 : 2 verdünnt wurde. Zu 1,0 cem derartig hergestellter CuSO₄-Lösung wurde 0,2⁵ cem B. coli-Emulsion zugefügt. Die Röhrenchen wurden durch 24 Std. bei Zimmertemperatur ruhig gestellt und aus jedem sodann eine Oese in Bouillon und auf Drigalski-Agar geimpft (Kontrolle). Gleichzeitig wurde aus jeder Verdünnung 0,1 cem in 1,0 cem dest. Wasser und physiolog. Kochsalzlösung übertragen und dort mehrere Tage bei Zimmertemperatur belassen, wobei in festgesetzten Intervallen auf Drigalski-Agar geimpft wurde. Die Anordnung und die Ergebnisse des Versuches sind im Schema I ersichtlich.

Schema I.

Konzentration des CuSO ₄ + 0,25 cem B. coli Emulsion	Nach 24 Stunden Ein- wirkung des CuSO ₄ geimpft auf		Geimpft auf Drigalski nach Einwirkung von									
			H ₂ O nach					1% NaCl-Lösung nach				
			2	4	6	8	10	2	4	6	8	10
	Bouillon	Drigalski	Tagen					Tagen				
1:10	Steril	Steril	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:20	"	"	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:40	"	"	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:80	"	"	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:160	"	"	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:320	"	"	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:640	"	"	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:1280	"	"	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:2560	"	"	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:5120	"	"	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Der negative Ausfall dieses Versuches berechtigt uns zu dem Schlusse, daß die Bakterien entweder jedwede Lebensfähigkeit eingebüßt haben, oder daß es unmöglich ist, durch diesen einfachen Eingriff, ihnen dieselbe wiederzugeben. Wir versuchten auf einem anderen Wege zwischen lebensfähigen und abgetöteten Bakterien zu unterscheiden. Wir gingen von Erfahrungen aus, welche wir bei dem Studium der Eiweißkoagulation mittels Kupfersalzen gewonnen haben. Die Kupfersalze zeichnen sich durch eine intensive Koagulationsfähigkeit dem Eiweißkörper gegenüber aus, vermögen aber auch Lipoidlösungen zur Ausflockung zu bringen. In einer früheren, nicht publizierten Arbeit beschäftigten wir uns mit der Koagulation von Blutserum nach der Methode von Bečka (Biochem. Ztschr. Bd. 137. 1923). Beim Prüfen verschiedener Elektrolyte auf den Koagulationseffekt von Kupfersalzen verschafften wir uns Einblick in deren Einfluß. Gleichzeitig fahndeten wir nach chemischen Agentien, welche die Kupferkoagulate wieder in Lösung zu bringen imstande wären. Kupferkoagulate sind prompt reversibel nach Zusatz von Natriumzitrat und Natriumthiosulfat. Dieser Vorgang ist rein chemischer Natur. Na-Zitrat verbindet sich mit Kupfer, wobei sich in Wasser praktisch unlösliches Kupferzitrat bildet. Na-Thiosulfat geht in eine komplexe Kupferverbindung über, entzieht infolgedessen dem Eiweiß das Kupfer. Der Bakterienleib besteht hauptsächlich aus Lipoiden und Eiweißkörpern, ist also auch ein Kolloidsystem. Es ist somit nicht ausgeschlossen, daß die Wirkung des Kupfers auf Bakterien eine ähnliche ist, wie auf Serumkolloide; es handelt sich hier wahrscheinlich auch um einen Koagulationsvorgang. In dieser Ansicht sind wir bestärkt worden durch Beobachtungen von Agglutination von Coli-Bazillen durch Kupferverbindungen. Es ergab sich dabei, daß es keinen grundsätzlichen Unterschied

zwischen der Koagulation von Eiweißkörpern und der Salzagglutination durch Kupfersalze gebe. Beiderlei Vorgänge sind sowohl durch Na-Zitrat wie Na-Thiosulfat reversibel. Diese Erfahrungen benützten wir in unserer weiteren Arbeit, in der wir versuchten, mit Hilfe von Na-Zitrat und Na-Thiosulfat zwischen lebensfähigen und abgetöteten Bakterien zu unterscheiden. Wir stellten eine ganze Reihe von Versuchen an, in welchen wir Coli-Bazillen und Staphylokokken dem Einfluß von Kupfersalzen aussetzten mit Nachbehandlung von Na-Zitrat und Na-Thiosulfat. Die Lebensfähigkeit der Bakterien suchten wir durch Kultivierung auf festen und flüssigen Nährböden nachzuweisen. Die Versuchsanordnung glich im ganzen der schon früher angeführten. Das Bact. coli wurde 10 Min. dem Einflusse von CuSO_4 -Lösungen ausgesetzt und dann aus jeder Verdünnung 0,1 ccm in 1proz. wässrige Na-Zitrat und 2proz. Na-Thiosulfat(Merck)-Lösung übertragen. Nach 1stünd. Einwirkung wurde dann auf Nährböden geimpft und nach 48 Std. bei 37° die Resultate abgelesen. Die Ergebnisse zeigt das Schema II.

Schema II.

Konzentration des CuSO_4 + 0,25 ccm B. coli-Emulsion	Nach 10 Min. Einwirkung des CuSO_4 geimpft auf		Geimpft auf Drigalski nach 1stündiger Einwirkung von	
	Bouillon	Drigalski	1% Na-Zitrat	2% Na-Thiosulfat
1:10	0	0	++	0
1:20	0	0	++	+
1:40	0	0	+++	+
1:80	0	0	+++	+++
1:160	0	0	+++	+++
1:320	0	0	+++	+++
1:640	+	0	+++	+++
1:1280	+++	+	+++	0
1:2560	+++	++	+++	+++
1:5120	+++	++	+++	+++

+++ üppiges Wachstum, ++ starkes Wachstum, + schwaches Wachstum, 0 kein Wachstum.

Die Versuche ergeben nun, daß unsere Anschauungen über die Reversibilität der Desinfektionsvorgänge mittels Kupfersalzen sich auf dem richtigen Wege befinden. Es gelang uns, die Wiederbelebung der Bakterien fast im vollen Ausmaße, obzwar die Kontrollimpfungen nur in niedrigsten Verdünnungen ein positives Resultat lieferten. Dieser Versuch wurde mit annähernd gleichem Erfolge mehrmals wiederholt. Im ganzen haben wir bessere Resultate mit Na-Zitrat erzielt als mit Na-Thiosulfat und deshalb arbeiteten wir größtenteils mit dem Ersteren. Im Laufe der Zeit haben wir auch Untersuchungen über den Einfluß des Zitratanions angestellt, wieder hatten wir die besten Ergebnisse mit Na, weniger gute mit K und die schlechtesten mit Li-Zitrat zu verzeichnen. Hierauf untersuchten wir den Einfluß der Zeit auf den Reversibilitätsvorgang, und zwar einerseits durch Verlängerung der Einwirkungsdauer des Desinfektionsmittels, andererseits die des Zitrats. Die Ergebnisse sind im Schema III, IV, V enthalten.

Mit der Verlängerung der Desinfektionszeit sinkt die Möglichkeit der Reversibilität. Nur in den niedrigsten Konzentrationen des Kupfersulfats behält das Bact. coli seine Lebensfähigkeit sogar nach 2×24 Std. Die protrahierte Einwirkung des Na-Zitrats führt zu einer Resultatsverbesserung, ganz besonders bei kurz anhaltender Desinfektionsdauer. Weiters zogen wir zu unseren Versuchen auch andere Kupfersalze, und zwar die meist verwendeten heran. Die Versuchsanordnung haben wir zweckmäßig gekürzt; es handelte

Schema III.

Konzentration des CuSO_4 + 0,25 ccm B. coli Emulsion	Nach 12 Std. Ein- wirkung des CuSO_4 geimpft auf		Geimpft auf Drigalski-Agar nach 8stündiger Einwirkung von			
	Bouillon	Drigalski	1% Na-Zitrat	1% K-Zitrat	1% Li-Zitrat	2% Na-Thio- sulfat
1:10	0	0	0	0	0	0
1:20	0	0	0	0	0	0
1:40	0	0	0	0	0	0
1:80	0	0	+	0	0	0
1:160	0	0	0	+	0	++
1:320	0	0	+++	++	0	+++
1:540	0	0	+++	0	0	+++
1:1280	0	0	++	+++	0	0
1:2550	0	0	+++	++	0	+++
1:5120	0	0	+++	+++	0	+++

Schema IV.

Konzentration des CuSO_4 + 0,25 ccm B. coli Emulsion	Nach 24 Stunden Ein- wirkung des CuSO_4 geimpft auf		Geimpft auf Drigalski-Agar nach Einwirkung von 2% Na-Zitrat nach		
	Bouillon	Drigalski	24 Std.	2×24 Std.	3×24 Std.
1:10	0	0	0	0	0
1:20	0	0	0	0	0
1:40	0	0	0	0	0
1:80	0	0	0	0	0
1:160	0	0	0	+	++
1:320	0	0	0	0	+++
1:640	0	0	+++	++	+++
1:1280	0	0	+++	+++	+++
1:2560	0	0	0	+++	+++
1:5120	0	0	+++	+++	+++

Schema V.

Konzentration des CuSO_4 + 0,25 ccm B. coli Emulsion	Nach 2×24 Std. Ein- wirkung des CuSO_4 geimpft auf		Geimpft auf Drigalski-Agar nach Einwirkung von 1% Na-Zitrat nach		
	Bouillon	Drigalski	24 Std.	2×24 Std.	3×24 Std.
1:10	0	0	0	0	0
1:20	0	0	0	0	0
1:40	0	0	0	0	0
1:80	0	0	0	0	0
1:160	0	0	0	0	0
1:320	0	0	0	0	0
1:630	0	0	0	0	0
1:1280	0	0	0	++	+++
1:2560	0	0	0	+	+++
1:5120	0	0	++	+++	+++

sich uns nur um die Feststellung, daß sich auch andere Kupfersalze gleich verhalten, wie das Sulfat. In diesen Versuchen übertrugen wir nicht mehr die desinfizierten Bakterien in Röhrchen, die Na-Zitrat enthielten, sondern wir fügten 1 ccm 1proz. Na-Zitrat direkt nach Ablauf der Desinfektionszeit in das

Bakterien und Desinfektionsmittel enthaltende Röhrchen hinzu. Diese Modifikation hatte keinen besonderen Einfluß auf die Versuchsergebnisse (Schema VI).

Schema VI.

Konzentration der Kupfersalze + 0,25 cm B. coli Emulsion	24 Std. CuCl ₂ Wirkung			24 Std. Cu(NO ₃) ₂ Wirkung			24 Std. Cu-acetat Wirkung			24 Std. CuSO ₄ Wirkung		
	Auf Dri-galski ge-impft	geimpft nach 12 Std. Wir-kung von		Auf Dri-galski ge-impft	geimpft n. 12 Std. Wirkung v.		Auf Dri-galski ge-impft	geimpft nach 12 Std. Wir-kung von		Auf Dri-galski ge-impft	geimpft nach 12 Std. Wir-kung von	
		1% Na-Zitrat	2% Na ₂ S ₂ O ₃		1% Na-Zitrat	2% Na ₂ S ₂ O ₃		1% Na-Zitrat	2% Na ₂ S ₂ O ₃		1% Na-Zitrat	2% Na ₂ S ₂ O ₃
1:50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:500	0	++	0	0	++	+	0	+++	+	0	+++	++
1:1000	0	0	+	0	+++	0	0	+++	+	0	+++	+
1:2000	0	+++	++	0	+++	++	0	+++	+++	0	+++	+++

Schema VII.

Konzentration der Kupfersalze + 0,25 cem B. coli Emulsion	Geimpft auf Drigalski-Agar nach 24 Std. Einwirkung von CuCl ₂		Geimpft auf Drigalski-Agar nach 24 Std. Einwirkung von Cu(NO ₃) ₂		Geimpft auf Drigalski-Agar nach 24 Std. Einwirkung von Cu-acetat		Geimpft auf Drigalski-Agar nach 24 Std. Einwirkung von CuSO ₄	
	rein	mit 1% Na-Zitrat	rein	mit 1% Na-Zitrat	rein	mit 1% Na-Zitrat	rein	mit 1% Na-Zitrat
1:50	0	+++	0	+++	0	+++	0	+++
1:100	0	+++	0	+++	0	+++	0	+++
1:500	0	+++	0	+++	0	+++	0	+++
1:1000	0	+++	0	+++	0	+++	0	+++
1:2000	0	+++	0	+++	0	+++	0	+++

In Hinsicht auf die Raumersparnis geben wir nur eine einzelne schematische Versuchsbeschreibung bekannt, aus der klar hervorgeht, daß sich auch die anderen Kupfersalze im allgemeinen ähnlich verhalten, wie das Kupfersulfat. In späteren Versuchen unter Anwendung gleicher Technik durchforschten wir auch die Desinfektionswirkung der Zinksalze. Mit Hilfe von Na-Zitrat und Na-Thiosulfat erhielten wir analog dem Kupfer eine Reversibilit   des Desinfektionsvorganges. Außer Coli-Bazillen verwendeten wir auch Staphylokokken, wobei keine andere Abweichung zu verzeichnen war, als eine größere Resistenz der Staphylokokken gegenüber Kupfersalzen. Wie bei dem Bact. coli, besteht auch bei Staphylokokken die gleiche Reversibilit  . Zur Ergänzung unserer Versuche und zur Bestätigung unserer Anschauungen stellten wir noch folgenden „Best  tigungsversuch“ an. Wir fügten nämlich dem Desinfektionsmittel vor Versuchsbeginn das Na-Zitrat hinzu und vermengten dies mit der bakteriellen Emulsion. Wie aus dem Schema Nr. VI ersichtlich ist, blieb in folgedessen jede Desinfektionswirkung aus.

Ueberblicken wir nun eine Reihe dieser Versuche und vergleichen die hier überprüften Methoden zur Feststellung der Bakterienabt  tung und Entwicklungshemmung, so ergibt sich, daß ihre Ergebnisse weit auseinandergehen. Nach den üblichen Methoden betrachten wir Bakterien für abgetötet, trotzdem dieselben noch lebensfähig sind, aber sich selbst überlassen, vermögen sie ihre

Existenz nicht weiter zu fristen. Zur Regeneration ihrer Vitalität ergibt sich vor allem die Notwendigkeit, das Kupfer zu entfernen, welches eine Art mechanischen Hindernisses ihrer Lebensäußerungen dadurch bildet, daß es die Bakterien einerseits von der Umgebung und Ernährungsmöglichkeit abschließt, andererseits die Fortpflanzung verhindert. Wirken wir nun auf diese gewissermaßen konservierten Bakterien mittels Na-Zitrat ein, so kommt es zur Bildung von Kupferzitrat, das im Wasser lipoid- und eiweißunlöslich und deshalb auch unschädlich ist. Ein ähnlicher Vorgang ist die Ausschaltung von Kupfer durch Na-Thiosulfat, wobei es zu einer in Wasser löslichen komplexen Verbindung mit besonderen Eigenschaften kommt, insofern es sich um ihre Beziehungen zu Lipoiden und Eiweißkörpern handelt. Letzteres werden wir noch später genauer ausführen. Zur Regeneration der durch bestimmte Metallsalze geschädigten Bakterien bedarf es eines antagonistisch wirkenden Salzes, wodurch die Metallionen gebunden werden in der Voraussetzung, daß das neu geschaffene Milieu jedes schädlichen Einflusses auf Bakterien entbehrt.

Beachtenswert in den Reversibilitätsvorgängen erscheint die Einwirkungsdauer einerseits des Kupfers, andererseits des Zitrats. Im ganzen ergibt sich, daß die längere Einwirkung des Desinfektionsmittels auch eine längere Einwirkung des Na-Zitrats zur Erzielung der Regeneration erfordert. Bei Verwendung von stärker konzentrierten Kupfersalzen mißlingt eine Belebung bei noch so langer Einwirkung des Na-Zitrats. In größeren Verdünnungen des Kupfers läßt sich eine Reversibilität erzielen auch nach 2×24 stünd. Einwirkung, die Reversibilität erfordert hier aber eine gleich lange Einwirkungsdauer von Na-Zitrat. Diese Beobachtungen führen uns zu dem Schlusse, daß zur Desinfektion von Bakterien nicht die Anhäufung des Kupfers an der Bakterienoberfläche genügt, sondern daß das Kupfer vorerst in das Innere der Bakterien eindringen muß, bevor es zu einem Abtöten kommen kann. Dies schließen wir daraus, weil zur Wiederbelebung von Bakterien öfters 24 Std., ja sogar eine längere Einwirkung von Na-Zitrat notwendig ist, was bei oberflächlicher Anlagerung des Kupfers nicht der Fall wäre. Gelingt es den Kupferionen nicht, genügend tief einzudringen, dann töten sie die Bakterien im rechten Sinne des Wortes nicht ab, sondern diese gehen nach längerer Zeit deshalb zugrunde, weil sie von der Außenwelt abgesperrt wurden.

Soweit es sich um regenerierte Bakterien handelt, beobachteten wir oft genug Abweichungen des Wachstums und der biochemischen Eigenschaften. Sehr häufig, aber hauptsächlich nach kurzer Einwirkung des Zitrats, fanden wir kleine Coli-Kolonien vor, die erst nach 48 Std. zu ihrer normalen Gestalt heranwuchsen. Nach längerer Zitratwirkung verschwand diese Erscheinung bei denselben Bakterien. In anderen Fällen wehrten sich die Coli-Bazillen durch Schleimbildung. Das *B. coli* bildete visköse Kolonien, ähnlich denen nach Einwirkung von Bakteriophagen. Diese Erscheinung schwand nach 2—3maliger Ueberimpfung. Die bemerkenswerteste, aber überaus seltenste Atypie betraf den Verlust der fermentativen Eigenschaften, die sich in der Unfähigkeit der Laktose- und Glukosevergärung zeigte. Diese Störung blieb dauernd, was auch nach zahlreichen Ueberimpfungen auf feste und flüssige Nährböden festgestellt wurde. Die Ursache dieser Erscheinung blieb uns unbekannt.

Sehr oft beobachteten wir bei diesen Reversibilitätsversuchen Unregelmäßigkeiten, die darin bestanden, daß in höheren Konzentrationen des Desinfektionsmittels die Belebung von Bakterien vor sich ging, in niederen dagegen dieselbe ausblieb. Diese Abweichungen sind nicht auf Versuchsfehler zurückzuführen, sondern es handelt sich hierbei um eine analoge Erscheinung, vergleichbar dem allgemeinen bekannten Zonenphänomen bei Koagulationsvorgängen. Dieses Zonenphänomen entsteht auch bei Peptisationsvorgängen,

wodurch die physikalisch-chemische Natur beider Prozesse wieder in den Vordergrund tritt.

Die Bakterienwiederbelebung ist vom theoretischen Standpunkt bemerkenswert. Praktisch legen wir ihr keine größere Bedeutung bei. Kaum finden sich Bakterien in so optimaler Umgebung vor.

Wir konnten auf Grund des Na-Zitratverfahrens zwischen Desinfektion und Entwicklungshemmung gut unterscheiden. Die Neubelebung der Bakterien ist trotz negativen Ausfalles sowohl der Kulturellen- als auch der Auswaschverfahren mittels dest. Wassers und physiolog. Kochsalzlösung häufig durchführbar. Noch eine Frage müssen wir von rein theoretischem Gesichtspunkt berücksichtigen, und zwar die Frage über gegenseitige Beziehungen zwischen den Kupferionen und dem Bakterienleibe. Handelt es sich hier also um eine reine Adsorption oder kommt es zu deutlichen Veränderungen der Bakterienzelle? Diese Frage suchten wir durch nephelometrische Beobachtungen aufzuklären.

Nephelometrische Untersuchungen.

In dieser Arbeit gingen wir von nephelometrischen Beobachtungen aus, wie sie von Angerer (Arch. f. Hyg. Bd. 93. 1923), Muntner (Ztschr. f. Hyg. Bd. 106. S. 50) sowie von Roubal (Spisy lek. fakulty Masarykovy university. T. 2. 1925. p. 42) veröffentlicht wurden. Nach Feststellungen Muntners sind die hitzekoagulierten Bakterien zur Feststellung der Keimzahl einer Bakterienemulsion, im Nephelometer ungeeignet, weil eine Aenderung der bakteriellen Biokolloide hinzutritt. Von diesem Standpunkt ausgehend studierte Roubal den Einfluß der Hitze und anderer eiweißkoagulierenden Mittel auf den nephelometrischen Effekt der Bakterienemulsionen. Aus seiner Arbeit ergibt sich, daß nach Zusatz eines eiweißkoagulierenden Mittels zu Bakterienemulsion eine Steigerung des nephelometrischen Effektes eintritt. Diese Erhöhung des nephelometrischen Effektes (N. E.) ist nicht etwa auf Veränderungen in der Größe der Bakterien zurückzuführen, was durch mikroskopische Untersuchungen festgestellt wurde, sondern nur auf Veränderungen der Dispersität der bakteriellen Biokolloide. In einer früheren Arbeit wurde der Einfluß verschiedener eiweißkoagulierenden Mittel auf den N. E. der Typhus- und Coli-Emulsionen, studiert (Vignati, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 107. S. 54) und hierbei hat sich eine Uebereinstimmung mit der Roubalschen Arbeit ergeben.

Es wäre auf Grund dieser Ueberlegungen möglich, Veränderungen in der Bakterienzelle festzustellen, welche sich allen bisherigen Methoden entzogen haben. Man könnte feine, an den Bakterienkolloiden sich abspielende Vorgänge, beobachten, soweit sie sich in Alteration derselben äußern. Es wäre für die Theorie der Desinfektionswirkung interessant, den Desinfektionsvorgang einer nephelometrischen Kontrolle zu unterziehen. Die Metallsalze werden ihre eiweiß- und lipidkoagulierenden Eigenschaften mit größter Wahrscheinlichkeit auch auf bakterielle Lipide und Eiweißkörper geltend machen. Auf diese Art wird man vielleicht Anhaltspunkte finden, die einerseits den Charakter des Desinfektionsvorganges, bzw. der Entwicklungshemmung klar legen, andererseits wird man vielleicht aus dem N. E. einer Bakterienemulsion nach Zusatz eines metallischen Desinfektionsmittels auf die Lebensfähigkeit der Bakterien schließen können. Wir haben nun eine Reihe von nephelometrischen Untersuchungen angestellt, um diese Fragen aufzuklären. Es handelte sich vor allem um die Lösung folgender strittiger Frage: Ist die Entwicklungshemmung ein bloßer Adsorptionsvorgang, oder tritt eine chemische Bindung ein? Zur Feststellung dieser Tatsache haben wir eine Coli-Bazillenemulsion nach

Zusatz von CuSO_4 untersucht. Alle hier beschriebenen Messungen wurden mit dem Kleinmannschen Nephelometer ausgeführt. Die Handhabung des Apparates wurde von Kleinmann eingehend beschrieben (Kolloid. Ztschr. Bd. 27. 1920. H. 5. S. 236).

In unseren Messungen wurden Coli-Bazillenemulsionen mit Emulsionen gleicher Konzentration nach Zusatz von CuSO_4 verglichen. Die Emulsion wurde durch Abschwemmen einer 24stünd. Coli-Bazillenaussaat einer normalen Nähragarplatte hergestellt und in 2 Zentrifugenröhrchen aufgefüllt. Nach 20 Min. scharfer Zentrifugierung wurde die Flüssigkeit abgegossen und durch frische Kochsalzlösung ersetzt, aufgeschüttelt und nochmals zentrifugiert. Diese Durchspülung, welche noch 2mal vorgenommen wurde, verfolgte den Zweck, die noch etwa in Lösung befindlichen Beimengungen vom Nähragar zu entfernen, da dieselben imstande wären, eine Steigerung des Tyndalleffektes herbeizuführen. Beide Röhrchen wurden nun gut aufgeschüttelt und die Emulsion mikroskopisch untersucht, um einerseits sich über die Verteilung der Bakterien Einblick zu verschaffen, um andererseits jedwede agglutinatorische Erscheinung auszuschließen, die imstande wäre, fehlerhafte Resultate herbeizuführen. Beide Röhrchen wurden nun im Nephelometer eingestellt und verglichen. Als Resultat ergab sich ein vollkommen gleicher N. E. Nachdem wir uns vorher überzeugt hatten, daß eine 1proz. CuSO_4 -Lösung in physiolog. Kochsalzlösung nephelometrisch vollkommen leer ist, also keinen Tyndalleffekt liefert, setzten wir einem der beiden Bakterienemulsionen enthaltenden Röhrchen 1proz. CuSO_4 hinzu. In Zeitabschnitten von 5 Min. wurden Veränderungen im N. E. kontrolliert. Aus diesem Versuche hat sich ergeben, daß schon nach 5 Min. eine fast 50proz. Erhöhung des Tyndalleffektes eintritt, die sich während einer Beobachtungszeit von 30 Min. nur gering vergrößerte. Die plötzliche Erhöhung des Tyndalleffektes kann nur durch eine Änderung in dem Dispersitätsgrade der bakteriellen Biokolloide verursacht worden sein, ein Vorgang, der große Ähnlichkeit mit der Koagulation von Eiweiß und Lipoidlösungen nach Zusatz von CuSO_4 besitzt. Die Kupferionen bringen die Bakterienkolloide zur Koagulation, was sich durch die fast augenblickliche Erhöhung des N. E. kundgibt. Es handelt sich also um keine einfache Adsorption eines Kristalloides an den Bakterienleib, denn diese wäre nicht von einer Erhöhung des N. E. begleitet, denn das Färben der Bakterienemulsion mit einem vitalen Farbstoff (Neutralrot) zeigt keine Erhöhung des N. E. Bemerkenswert ist diese Erhöhung des N. E. auch aus dem Grunde, weil sie bei noch vollkommen lebensfähigen Bakterien eintritt, denn das Abtöten folgt erst später. Wir können daher aus der Erhöhung des N. E. auf die Lebensfähigkeit der Bakterien keine Schlüsse ziehen.

Durch diese Beobachtungen haben wir eine auffallende Ähnlichkeit zwischen dem Verhalten der Kupferionen zu den Eiweiß- und Lipoidlösungen einerseits und den Bakterienemulsionen andererseits festgestellt. Der makroskopisch sichtbaren Flockung der Eiweiß- und Lipoidemulsionen entspricht eine Mikrokoagulation der bakteriellen Biokolloide, welche sich in der Erhöhung des N. E. äußert. Um die Parallelität beider Vorgänge noch näher zu bestimmen, müssen wir die Frage der Reversibilität dieser Vorgänge durch Na-Zitrat und Na-Thiosulfat erst lösen. Schon bei den Desinfektionsvorgängen wurde von uns festgestellt, daß der Desinfektionsvorgang unter bestimmten Bedingungen durch Na-Zitrat und Na-Thiosulfat rückgängig gemacht werden kann und die Bakterien ihre Lebensfähigkeit wieder gewinnen. Zur Bestätigung und gleichzeitig zur Aufklärung dieser Vorgänge haben wir wieder zu den nephelometrischen Messungen von Coli-Bazillenemulsionen gegriffen. Dieser Versuch wurde unter den gleichen Bedingungen, wie der vorige durchgeführt. 4 Zentrifugenröhrchen

wurden mit einer Emulsion von *Bact. coli* in physiolog. Kochsalzlösung gefüllt. In 3 davon wurde 1proz. CuSO_4 zugesetzt, das 4. als Kontrolle belassen und alle 4 auf 24 Std. in den Eisschrank gestellt. Darauf wurden die Röhren gut durchgeschüttelt und mikroskopisch auf eventuell bereits vorhandene Agglutination durchgesehen. Nun wurde der N. E. der Emulsion mit CuSO_4 gegenüber der in physiolog. Kochsalzlösung gestellt. Die CuSO_4 -Emulsion ergab 50 Proz. höhere Werte. Nun haben wir 1proz. Na-Zitrat den CuSO_4 -Emulsion enthaltenden Röhren zugesetzt und nach 1 Std. beide Röhren wieder verglichen. Dasselbe wurde mit dem Na-Thiosulfat durchgeführt. Es zeigte sich, daß der N. E. der CuSO_4 -Emulsionen sich erniedrigte und sich mit der in physiolog. Kochsalzlösung fast ausglich. Wir versuchten auch, ob dieser durch Kupfer bedingte dyskolloidale Zustand der Bakterien auf Zusatz von physiolog. Kochsalzlösung reversibel sei. Wir zentrifugierten daher die kupferkoagulierten Bakterien ab, entfernten die klare CuSO_4 -Lösung und ersetzten sie durch die gleiche Menge einer 1proz. Kochsalzlösung. Darauf wurde das Röhren gut aufgeschüttelt und die Emulsion auf etwa vorhandene Agglutinationserscheinungen mikroskopisch kontrolliert. Nach einer Stunde bestimmten wir den N. E. durch Gegenüberstellung mit der Standardemulsion in physiolog. Kochsalzlösung. Der N. E. war unverändert. Die mit Kupfer imprägnierten Bakterien gaben ständig eine Erhöhung des N. E. von ungefähr 50 Proz., welche auf Zusatz der Kochsalzlösung nicht rückgängig gemacht werden konnte. Aus diesen Beobachtungen ergibt sich, daß die Bindung der Kupferionen an den Bakterienleib keine reine Adsorption ist. Es handelt sich mehr um einen physikalisch-chemischen Vorgang, nämlich einen Koagulationsprozeß, bedingt durch die Beziehungen des Eiweiß und der Lipoide zu den Kupferionen.

Schlußbetrachtungen.

In der vorliegenden Arbeit, in der wir die Desinfektionswirkung von Kupfersalzen auf *Bact. coli* und Staphylokokken untersuchten, zogen wir eine Parallele zwischen dem Desinfektionsvorgang und der Koagulationswirkung der Kupfersalze. Beiderlei Prozesse sind physikalisch-chemischer Natur und spielen sich, den Dispersitätsgrad wechselnd, an den kolloidalen Elementen ab. Die Reversibilität der Kupfereiweißkoagulate infolge des antagonistisch wirkenden Na-Zitrats und Na-Thiosulfats findet seine Berechtigung auch bei dem Desinfektionsvorgange, womit die Ähnlichkeit beider Prozesse begründet erscheint. Die Bakterienwiederbelebung mit Hilfe von Na-Zitrat und Na-Thiosulfat bewegt sich aber in bestimmten Grenzen; es besteht keine vollkommene Gleichheit zwischen der Reversibilität der Koagulationsvorgänge und der Neubelebung der Bakterien. Kommt es im Bakterienleib zu Veränderungen, welche mit der weiteren Lebensfähigkeit unvereinbar sind, so hat die Reversibilität der physikalischen Vorgänge keine Wiederbelebung der Bakterien zur Folge. Die Wiederbelebung von Bakterien, wie wir sie in unseren Versuchen beobachteten, ist einerseits von der Konzentration der Kupfersalze, andererseits von der Dauer der Desinfektionswirkung abhängig. Konzentrierte Kupferlösungen bringen die Bakterien in verhältnismäßig kurzer Zeit zum Absterben, verdünnte Lösungen aber belassen sie in einem Zustand, dem wir den Namen Entwicklungshemmung beilegen könnten, aus welchem die Möglichkeit der Reversibilität durch Na-Zitrat und Na-Thiosulfat noch besteht. Nach den bisher üblichen Methoden sehen wir diese Bakterien für abgetötet an. Hiermit erscheinen die Richtlinien zur Beurteilung der Desinfektionswirkung und Entwicklungshemmung gegeben. Von Vorteil wäre es, bei jedem Desinfektionsmittel nach einem so beschaffenen antagonistisch wirkenden Mittel zu suchen, um die Schnelligkeit der Bakterienabtötung und die Dauer der Entwicklungshemmung

feststellen zu können. Letztere kann, wie aus unseren Versuchen ersichtlich, auch 2×24 Std. betragen. In der Praxis aber können wir die sich in diesem Zustand befindlichen Bakterien ruhig als abgetötet betrachten. Es werden sich Bakterien kaum in so optimalen Bedingungen vorfinden, wie wir sie in unseren Laboratoriumsversuchen geschaffen haben. Für die Theorie der Desinfektionswirkung sind diese Befunde aber nicht ohne Bedeutung, zeigen sie uns doch die Vitalität der Bakterien und erlauben sie uns einen Einblick in die Natur des Desinfektionsvorganges.

Die nephelometrischen Versuche beleuchten den Desinfektionsvorgang wieder vom morphologischen Standpunkte aus. Sie bestätigen oder ergänzen uns eher unsere mikroskopischen Befunde, insbesondere dort, wo die Grenze der mikroskopischen Beobachtungen überschritten erscheint. Im Mikroskop verfolgen wir vielleicht Aenderungen der Färbbarkeit und der Gestalt der Mikroben, es entgeht uns aber der Vorgang, der zu ihnen geführt hatte. Hier tritt wieder die Nephelometrie in ihre Rechte, welche uns über Veränderungen in der Dispersität der Bakterienkolloide, insbesondere nach Einwirkung von Metallsalzen Kunde gibt. Wir sehen nun, daß mit Kupfer imprägnierte Bakterien, die im Mikroskop keine Aenderungen des morphologischen Charakters zeigen, im Nephelometer sich trotzdem durch eine bedeutende Erhöhung des Tyndalleffektes manifestieren. Wir wissen, daß diese Erscheinung auf Aenderungen der Bakterienkolloide hindeutet, ein Vorgang, welcher sich mikroskopischer Beobachtung vollkommen entzieht. Auf Zusatz von Na-Zitrat und Na-Thiosulfat verschwindet dieser Zustand und nähert sich wieder dem normalen.

Auf Grund der Untersuchungsergebnisse in vitro und im Nephelometer ergibt sich folgende Charakteristik des Desinfektionsvorganges: Unter Einfluß von Kupfersalzen kommt es fast unmittelbar zur Ausflockung der Bakterienkolloide, etwa in der Art, wie man es bei Eiweißlösungen beobachtet. Daß es sich dabei nur um eine Ausflockung und nicht um einen anderen Prozeß handelt, erkennt man nach Ausschluß grober morphologischer Veränderungen des Bakterienumfanges, aus der Verstärkung des nephelometrischen Effektes der Bakterienemulsionen. Dadurch, daß die Ausflockung höchstwahrscheinlich nur die äußere Schicht des Bakterienleibes betrifft, wird die Hauptmasse des Bakteriums dem Einflusse der Umgebung entzogen. Zu einer Abtötung kommt es nicht. Tatsächlich ist diese Desaggregation der bakteriellen Biokolloide nichts weiter als ein reversibler pathologischer Zustand, der in der parenchymatösen Degeneration der Körperzellen sein Gegenbild hat und der an den Zustand erinnert, welcher in der Bakteriologie als Entwicklungshemmung bezeichnet wird. Die mechanische Absperrung von der Außenwelt kann zur Vernichtung des Keimes führen, manchmal aber erst nach Ablauf von 2×24 Std., wovon wir uns in unseren Versuchen oft überzeugen konnten. Wenn man nämlich in dieser Frist die gebundenen Kupferionen durch ein antagonistisches Agens, z. B. Na-Zitrat und Na-Thiosulfat, entfernt, so werden die scheinbar abgetöteten Bakterien zu neuem Leben erweckt. Die dyskolloidale Oberflächenänderung hat manchmal eine Vitalitätseinbuße zur Folge, die sich durch Schleimbildung oder vorübergehenden, bzw. definitiven Verlust der biochemischen Eigenschaften kundgibt. So kann man beobachten, daß das *Bact. coli* seine Fähigkeit, Laktose und Glukose zu vergären, verliert und sich biochemisch dem *Bact. faecalis alcaligenes* nähert. Erst im weiteren Verlaufe des Desinfektionsvorganges dringen die Kupferionen in das Innere des Bakterienleibes ein, was mit der Vernichtung der Keime gleichbedeutend ist. Bei Verwendung von stärker konzentrierten Lösungen erfolgt dies schneller, bei weniger konzentrierten langsamer. Auf Grund dieser Erwägungen ist der Desinfektionsprozeß als ein aktiver Abtötungsvorgang zu bezeichnen, dagegen ist die Entwicklungshemmung das Absterben der Bakterien.

Im Nephelometer erscheinen noch so schwere Veränderungen der bakteriellen Biokolloide nach Zusatz von Na-Zitrat und Na-Thiosulfat reversibel. Die Reversibilität der physikalischen Veränderungen bedeutet aber keineswegs die Reversibilität der Lebens- und Vermehrungsfähigkeit der Bakterien. Zur Feststellung des Grades der Reversibilität der physikalischen Vorgänge eignet sich das Na-Zitrat und Na-Thiosulfatverfahren.

Die geschilderten Versuche haben unsere Kenntnisse über die Vitalität der Bakterien vertieft. Zur Lebensfristung bedürfen die Bakterien keiner totalen Intaktheit ihrer Leibessubstanz, es genügt, wenn nur der Teil erhalten bleibt, der für die Vermehrung und für das Leben am wichtigsten ist. Dieser Teil würde etwa dem Bakterienkern entsprechen. Bei dieser Annahme scheint die Existenz filtrierbarer Bakterienformen viel plausibler.

Nachdruck verboten.

Beitrag zur Kenntnis der Desinfektionswirkung der Metallsalze.

II. Teil.

Der Desinfektionsvorgang.

[Aus dem mikrobiologischen Institut der Universität in Brünn (Vorstand:
Prof. Dr. J. Kabelík).]

Von Dr. **J. Vignati** und Med. cand. **P. Schnabel**.

Im ersten Teile unserer Arbeit befaßten wir uns mit der Desinfektionswirkung der Kupfersalze auf *Bact. coli* und Staphylokokken, gleichzeitig arbeiteten wir eine Methode für die Bewertung der Entwicklungshemmung und Abtötung der Bakterien durch Kupfersalze aus. Es ließ sich feststellen, daß die üblichen Methoden zur Prüfung der Desinfektionswirkung der Metallsalze, den an sie gestellten Anforderungen nicht entsprechen. Auf Grund der Na-Zitratmethode können wir den Grad des Desinfektionsvorganges bestimmen. Bakterien, die durch die üblichen Methoden als abgetötet betrachtet werden, sind oft in Wirklichkeit nur in ihrer Entwicklung gehemmt. Diese Tatsache hat nur theoretische Bedeutung, für die Praxis ist sie von geringerer Wichtigkeit. Es genügen die bisherigen Methoden vollkommen zur Beurteilung der Lebens- und Vermehrungsfähigkeit der Bakterien. In der Praxis finden sich Bakterien kaum in so optimalen Bedingungen vor, wie wir sie *in vitro* bei unseren Versuchen mit Na-Zitrat zu schaffen vermögen.

In der Theorie der Desinfektionswirkung der Metallsalze finden sich viele ungeklärte Fragen. Vor allem betreffen sie die Natur des Desinfektionsvorganges. Im ersten Teile unserer Arbeit berichteten wir, daß die Entwicklungshemmung und Abtötung der Bakterien von einer Steigerung des Tyndalleffektes der Bakterienemulsion begleitet ist. Aus der Erhöhung des nephelometrischen Effektes (N. E.) schließen wir auf Veränderungen der bakteriellen Biokolloide, die auf Alteration des Dispersitätsgrades, im Sinne von größerer Komplexbildung, beruhen. Es handelt sich also um einen Koagulationsvorgang, welcher durch keinen anderen Prozeß vorgetäuscht werden kann, da wir grobe morphologische Veränderungen des Bakterienleibes durch mikroskopische Untersuchungen nicht feststellen konnten. Daraus ergibt sich, daß auch die Entwicklungshemmung auf Veränderungen der bakteriellen Biokolloide zurückzuführen ist und nicht etwa auf einfache Adsorptionserscheinungen, denn diese

wären nicht von einer Erhöhung des N. E. begleitet, was wir mit Sicherheit auf Grund unserer nephelometrischen Versuche mit Bact. coli-Emulsion nach Zusatz von Neutralrot behaupten können. Durch Einwirkung des „Neutralrot“ auf die Coli-Bazillen kommt es zwar zu einer Adsorption des Farbstoffes an den Bakterienleib, aber zu keiner Erhöhung des N. E., also höchstwahrscheinlich zu keiner Störung des Dispersitätsgrades. Es besteht also kein Zweifel, daß der Desinfektionsvorgang der Kupfersalze ein Koagulationsprozeß ist.

Mit Sicherheit ist die Frage auch noch nicht aufgeklärt, von welchen Bestandteilen des Bakterienkörpers die Metallionen aufgenommen werden. In unserer Arbeit versuchten wir auch diese Frage zu lösen. Es handelt sich hauptsächlich um das Verhältnis des Desinfektionsmittels zu den Lipoiden oder Eiweißkörpern, mit welchem von beiden es sich in Reaktion setzt. Andererseits ist die Feststellung von Wichtigkeit, ob der Lipoid- oder Eiweißanteil die Hauptrolle im Desinfektionsvorgang spielt. Praktisch würden wir uns der Lösung dieser Frage nähern, wenn wir eine Kupferverbindung finden, welche entweder die Lipoide oder Eiweißkörper unverändert läßt und sich nur mit einem dieser beiden Stoffe in Reaktion setzt. Wir haben in der komplexen Verbindung von Kupfer mit Na-Thiosulfat einen Stoff, der den genannten Anforderungen entspricht. Diese Verbindung ist sehr gut wasserlöslich und fällt Eiweiß nicht; sie entsteht, wenn wir z. B. CuSO_4 in einer Na-Thiosulfatlösung auf kaltem Wege lösen lassen. Die sonst blaue CuSO_4 -Lösung wird farblos, was ein Zeichen der Komplexbildung ist. Die Flüssigkeit darf sich weder durch ausgeschiedenen Schwefel milchig trüben, noch durch ausgefälltes Kupfer verfärben, sie muß also ganz klar und farblos sein, denn nur so bewahrt sie den oben beschriebenen Charakter.

Wir stellten eine Reihe von Versuchen mit dieser komplexen Kupferverbindung an, wobei wir verschiedene Kupfersalze zur Komplexbildung mit Na-Thiosulfat und zur Prüfung ihrer Desinfektionswirkung heranzogen. Die Versuche wurden in destilliertem Wasser (pH 7,5—7,7) bei Zimmertemperatur durchgeführt. Diesmal verwendeten wir nur Coli-Bazillen zur Prüfung der Desinfektionswirkung, da die gramnegativen Mikroben der Kupferwirkung eher unterliegen, als die grampositiven. Der Coli-Stamm wurde aus normalem Stuhl gezüchtet und daraus eine Emulsion bereitet, die einer beiläufig 12stünd. Bouillonkultur von Bact. coli entsprach. Das von Merek und Beiersdorf hergestellte Na-Thiosulfat bewährte sich gleich gut. Die Versuche wurden mit 1,0 ccm der Kupferlösungen, deren Konzentration in der Tabelle verzeichnet ist, durchgeführt. Wir prüften einerseits die reine Wirkung der Kupfersalze, andererseits dieselbe nach Zusatz von Na-Thiosulfat auf Bact. coli-Emulsion. Von dieser wurde in jedes Röhrchen 0,25 ccm zugegeben. Die Röhrchen wurden bei Zimmertemperatur ruhig gestellt und nach 6 Std. aus jedem eine Oese auf Drigalski-Agar geimpft. Die Ergebnisse dieses Versuches sind aus der Tabelle ersichtlich.

Konzentration der Kupfersalze + 0,25 ccm B. coli Emulsion	Die Impfresultate auf Drigalski-Agar nach 24stündiger Einwirkung von:							
	CuSO_4		CuCl_2		$\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$		Cu-acetat	
	rein	mit 2% $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$	rein	mit 2% $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$	rein	mit 2% $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$	rein	mit 2% $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$
1:50	0	0	0	0	0	0	0	+
1:100	0	++	0	+	0	+++	0	+++
1:500	0	+++	0	+++	0	+++	0	+++
1:1000	0	+++	0	+++	0	+++	0	+++
1:2000	0	+++	0	+++	0	+++	0	+++

Aus den Ergebnissen dieses Versuches ist zu ersehen, daß Kupferthiosulfat keine desinfizierenden Eigenschaften hat und *Bact. coli* nicht abtötet. In den Röhrechen, in denen die Entstehung eines Komplexes zweifelhaft war, trat eine Abtötung der Mikroben ein. Die Entstehung eines komplexen Kupfersalzes mit Na-Thiosulfat ist ein komplizierter chemischer Vorgang, der bisher noch nicht vollständig durchforscht ist und dessen chemische Struktur nicht festgestellt wurde. In wässriger Lösung sind diese Komplexe nicht beständig, es kommt mit der Zeit zum Zerfall des Thiosulfates und das umso eher, je größer die Konzentration des Kupfers ist. Denn Kupfersalze bewirken durch ihre saure Reaktion die Abspaltung von freiem Schwefel aus Thiosulfat, wozu es schon bei ganz geringer Azidität kommen kann (pH 6—6,1) (Daniel, Berichte ü. d. Ges. Physiologie u. Pharmakologie. Bd. 42. 1928. S. 615). Das so entstandene, alkalisch reagierende Na-Sulfit neutralisiert dann die durch Kupfersalze verursachte Azidität, es fungiert also hier Na-Thiosulfat als Puffer für die neutrale Reaktion. Die ausgeschiedenen Schwefelionen polymerisieren schnell zu makroskopisch sichtbaren Schwefelkörnchen. Ist aber in der Lösung kein Ueberschuß von Na-Thiosulfat, dann kommt es zu einer Reaktion mit Kupfer; es bildet sich Kupfersulfid, was sich durch braun bis braunschwarze Verfärbung anzeigt. Die Reaktion wird durch Wärme beschleunigt. Soweit wir in unserer Arbeit den Ausdruck Kupferthiosulfat verwenden, verstehen wir darunter eine farblose, klare Flüssigkeit, die während 24 Std. unverändert bleibt, Eiweiß nicht fällt und nicht hämolytisch wirkt. Das wird dadurch erzielt, daß der Lösung ein Ueberschuß von Na-Thiosulfat zugesetzt wird, also mehr als zur Bildung eines Komplexes notwendig wäre. So hergestellte wässrige Lösung von Kupferthiosulfat desinfiziert auch nach längerer Zeit nicht, wovon wir uns durch Ueberimpfung nach 24—48 Std. überzeugen konnten. Die *Coli*-Bazillen behalten ihre Beweglichkeit, Vermehrungsfähigkeit und ihre biochemischen Eigenschaften, es konnten an ihnen keine Schädigungen festgestellt werden.

Aehnlich wie bei den Kupfersalzen prüften wir den Einfluß des Thiosulfates bei Silber, Blei, Zink und Alkohol. Ueberall bewirkten die Thiosulfatkomplexe die Aufhebung der desinfizierenden Wirkung der Metallionen. 50proz. Alkohol verliert nach Zusatz 5proz. Na-Thiosulfats seine desinfizierenden Eigenschaften auf *Bact. coli*. Dieses Ergebnis ist umso bemerkenswerter, da es nicht sicher gestellt ist, ob Alkohol im Desinfektionsprozeß durch seine eiweißfällende Eigenschaft oder durch seine Lipoidlöslichkeit wirkt. Nach unseren Ergebnissen handelt es sich eher um die erste Möglichkeit, da Alkohol-Eiweißkoagulate durch Na-Thiosulfat wiederum in Lösung übergehen. Um Raum zu sparen, haben wir von der Bekanntgabe aller Protokolle abgesehen, da die Versuche in gleicher Anordnung wie mit Kupfer durchgeführt wurden.

Die komplexe Verbindung von Thiosulfat mit Metallen in wässriger Lösung tötete Mikroben nicht ab. Andere Verhältnisse fanden wir auf Nährböden mit einem Zusatz von Na-Thiosulfat. Durch die Tätigkeit der Bakterien wird der Komplex gestört, es wird einestheils Schwefel frei, anderenteils entsteht eine neue Kupferverbindung, welche eine ausgiebige desinfizierende Wirkung besitzt. Diesen Vorgang beobachteten wir auf festen Nährböden, die 1,0 g $CuSO_4$ und 10 g $Na_2S_2O_3$ auf 100 cem Nähragar enthielten. Auf solchen Nährböden vermehrte sich *Bact. coli* 6 Std. normal. Nach dieser Zeit hörte das Wachstum auf, da die durch den Zerfall des Thiosulfats entstandenen Kupferverbindungen in Aktion traten und nicht nur, daß sie das Wachstum der Bakterien zum Stillstand brachten, sie töteten auch die neu entstandenen Bakterienkolonien. Die Ergebnisse dieser Kulturen nach 14 Std. waren kleine verkümmerte Kolonien, die sich durch Ueberimpfung nicht mehr übertragen ließen, und in deren Umgebung der Nährboden durch ausgeschiedenes Kupfer braun gefärbt

war. Um welche Kupferverbindung es sich hierbei handelt, haben wir nicht versucht, festzustellen, wahrscheinlich kommt Kupfersulfid in Frage. Diesen Verhältnissen wird eine eigene Studie gewidmet werden.

Auf Grund dieser und im ersten Teil unserer Arbeit angeführten Versuche, haben wir die Ueberzeugung gewonnen, daß der Desinfektionsvorgang bei Metallsalzen ein physikalisch-chemischer ist. Durch Ausflockung der bakteriellen Biokolloide werden in den Bakterien Veränderungen geschaffen, die man der parenchymatösen Degeneration der Körperzellen gleichstellen könnte. Diese dyskolloiden Zustände können wieder durch bestimmte Faktoren, zu denen auch Na-Thiosulfat gehört, in eukolloide übergeführt werden; jedoch ist diese Art der Restitution nicht immer mit einer Wiederbelebung der Mikroben verbunden, besonders dann nicht, wenn die Bakterien längere Zeit der Desinfektionswirkung ausgesetzt waren. Der Fällungsvorgang kann sich in den Lipoid-, wie in den Proteinkomponenten der Bakterienzelle abspielen, da die Metallsalze lipoid- wie eiweißfällend sind. Es handelt sich also um die Klärung der Frage, welcher von beiden Substanzen die bedeutendere Rolle im Desinfektionsvorgang zukommt. Von neueren Arbeiten ist die von Gutstein (Centralbl. f. Bakt. I. Bd. 104. 1927. S. 410) bemerkenswert, welche diese Frage ausführlich behandelt. Der Autor kommt nach vielen Versuchen zu dem Schluß, daß bei der Metallsalzesdesinfektion die Hauptrolle den bakteriellen Lipoiden zuzuschreiben ist, welche den Hauptanteil des bakteriellen Ektoplasmas bilden. Auch soll die Desinfektionswirkung nach der Lipoidlöslichkeit des Desinfektionsmittels schwanken.

Nach unseren bisherigen Erfahrungen, die wir bei den Desinfektionsversuchen, sowie bei den Versuchen über Koagulation und ihre Reversibilität bei Metallsalzen mit Na-Thiosulfat machten, neigen wir der Ansicht zu, daß sich die Desinfektionsvorgänge eher in den Eiweißkomponenten der Bakterienzelle abspielen, als in den Lipoidanteilen. In dieser Ansicht sind wir durch die Beobachtungen über Koagulation des Serumeiweißes durch Kupfersalze und Auflösung der Koagulate durch Na-Zitrat und Na-Thiosulfat bestärkt worden. In diesem Sinne sprechen auch unsere im ersten Teile angeführten nephelometrischen Beobachtungen, wo es uns die Erhöhung des N. E. wieder durch Na-Zitrat und Na-Thiosulfat auf fast normale Werte zurückzubringen gelang, sowohl auch auf Coli-Bazillen durchgeführten Belebungsversuche. Es ist eine auffällige Kongruenz zwischen Koagulationswirkung von Eiweißkörpern und der Desinfektionswirkung. Mit Verlust der einen geht auch die andere verloren. Es blieb noch eines festzustellen: das Verhalten des Kupfersulfates und Kupferthiosulfats zu den Lipoiden. Dies wollten wir auf zweierlei Wege entscheiden: 1) durch rein chemische Methoden, 2) durch nephelometrische Beobachtungen von Coli-Bazillen, und zwar unveränderten und von Lipoiden befreiten nach Einwirkung von CuSO_4 .

Unsere ersten Versuche, Kupfer mit dem gebräuchlichsten Reagenz H_2S in Coli-Bazillen nachzuweisen, wobei Kupfersulfid entsteht, hat vollkommen fehlgeschlagen. Das an Eiweiß und Lipoide komplex gebundene Kupfer, entzieht sich diesem Nachweis, weshalb wir von dieser Methode, die auch unsere Vorgänger enttäuscht hat, Abstand nahmen. Es blieb uns daher übrig, das Kupfersulfat und Kupferthiosulfat auf ihre Lipoidlöslichkeit zu prüfen. Wir lehnten uns bei diesen Versuchen an die Schumachersche (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 98. 1926. S. 67) Methode an. Eine Aether-Lezithinlösung wird mit einer wässerigen Kupfersulfatlösung ausgeschüttelt, stark zentrifugiert, wodurch das Wasser vom Aether getrennt wird. Wir untersuchten den Kupferverlust aus der wässerigen Lösung durch kolorimetrischen Vergleich mit einer CuSO_4 -Kontrollösung. Genau so gingen wir mit Kupferthiosulfat vor. Das Kupfer

durch Schwefelwasserstoff in einer Aether-Lezithinlösung nachzuweisen, ist nicht immer geglückt, da sich das an Lezithin gebundene Kupfer aus den gleichen Gründen wie bei Eiweißlösungen ziemlich schwer nachweisen läßt. Die Lipoidlöslichkeit der Metallsalze danach zu beurteilen, wie sie in Lipoidlösungsmittel, z. B. Aether, löslich sind, halten wir für ganz unrichtig. Die Aether-Lezithinlösung ist keine wirkliche Lösung, denn das Lezithin befindet sich dort in kolloidaler Form. Kupferionen müssen an Lezithin nicht ausschließlich chemisch gebunden, sie können auch adsorbiert sein. Auf diese Verhältnisse hat aber ein Lipoidlösungsmittel keinen Einfluß, und es ist daher der Beweis der Lipoidlöslichkeit auf Grund der Aetherlöslichkeit verfehlt.

Der eigentliche Versuch, bei dem wir die Löslichkeit von Kupfersulfat und Kupferthiosulfat in einer Aether- und Chloroformlezithinlösung auf eben beschriebenen Wege durchgeführt haben, zeigte eine erhöhte Anhäufung von Kupferthiosulfat in den Lipoiden. Also vollkommen umgekehrt, als zu erwarten war, wenn wir den Lipoiden größere Wichtigkeit im Desinfektionsvorgang beimessen. Kupferthiosulfat wurde aus wässriger Lösung durch Lipoiden viel mehr angenommen, als Kupfersulfat, was auf eine erhöhte Affinität des Thiosulfatpräparates schließen läßt. Aus diesem Versuche ergab sich der Eindruck, daß an der Lipoidlöslichkeit nicht so viel gelegen ist, wie an dem Verhältnis zu den Eiweißkörpern. Um uns diese Verhältnisse an Bakterien klarzulegen, stellten wir eine Reihe von nephelometrischen Untersuchungen an.

Nephelometrische Versuche.

Die nephelometrischen Untersuchungen hatten den Zweck, die Eigenschaften der normalen und der von Lipoiden befreiten Bakterien festzustellen. Wir folgten hier ebenfalls die Frage des rezeptiven Faktors der desinfizierenden Ionen, wobei wir unser Augenmerk besonders darauf lenkten, ob die Veränderungen des N. E. bei normalen Bakterien dieselben sein werden, wie bei fettextrahierten, nach Einwirkung von CuSO_4 . Dadurch ließe sich entscheiden, ob die Eiweiß- oder Lipoidkomponente die Veränderung des N. E. bedingt. Die Versuche wurden mit dem Kleinmannschen Nephelometer durchgeführt. Verwendet wurde eine Bact. coli-Emulsion, die aus normalem Stuhl gezüchtet wurden. Der Versuch wurde folgendermaßen durchgeführt: 4 Zentrifugenröhrchen A, B, C, D wurden mit 10 cem Bact. coli-Emulsion in physiolog. Kochsalzlösung gefüllt. Die Emulsion wurde durch Abschwemmen einer 24stünd. Aussaat von Coli-Bazillen auf einer normalen Agarplatte gewonnen. Alle 4 Röhrchen wurden zentrifugiert und das bakterielle Sediment dann zweimal mit physiolog. Kochsalzlösung durchgespült, um eventuelle Agarbeimengungen zu beseitigen. Darauf wurde A, B mit physiolog. Kochsalzlösung auf 10,0 cem angefüllt, C, D auf 24 Std. Aether zugesetzt, beständig geschüttelt, um die Lipoiden zu extrahieren. Am nächsten Tag wurde der Aether abpipettiert, worauf die Bakterien noch einer 24stünd. Azetonextraktion ausgesetzt wurden. Nach Beendigung der Lipoidextraktion wurde das Lipoidlösungsmittel entfernt und den Röhrchen 10,0 cem physiolog. Kochsalzlösung hinzugefügt. Nun wurde in B, D 0,1 g CuSO_4 zugegeben. Alle Röhrchen wurden dann 1 Std. bei Zimmertemperatur ruhig gestellt, darauf tüchtig durchgeschüttelt und einer mikroskopischen Kontrolle unterzogen, um festzustellen, ob es nicht unter dem Einflusse des Kupfers zu Agglutinationskomplexen kam, die störend auf die nephelometrische Untersuchung einwirken könnten. Es wurden in keinem Röhrchen Agglutinationen festgestellt. Hierauf konnten wir mit den nephelometrischen Messungen beginnen. Es wurden die Röhrchen im Nephelometer in folgender Reihenfolge verglichen: A : B, A : C, C : D, D : B.

Die Resultate waren ganz anders, als wir sie erwarteten. Der Vergleich A : B

zeigte, daß die nicht entfetteten Bakterien (B) nach 1stünd. Einwirkung von 1 Proz. CuSO_4 ihren N. E. um etwa 50 Proz. erhöhten, welche Erscheinung wir übrigens immer beobachteten. Der Vergleich A : C, der nicht entfetteten (A) und entfetteten (C) Bakterienemulsion, hat aber gezeigt, daß der Entfettungsprozeß auch ungemein intensiv die Proteine angreift, indem er den N. E. der entfetteten Bakterien um 70 Proz. erhöht. Der Vergleich C : D, der entfetteten (C) und derselben nach 1stünd. Einwirkung von 1 Proz. CuSO_4 zeigte das interessanteste Resultat, denn der N. E. änderte sich überhaupt nicht mehr. Der Vergleich D : B der entfetteten (D) und nicht entfetteten (B) Bakterienemulsion, beide nach 1stünd. Einwirkung von 1 Proz. CuSO_4 zeigte, daß die entfetteten Mikroben einen um 20 Proz. erhöhten N. E. haben, was aber für uns von keiner besonderen Bedeutung war.

Das bemerkenswerteste Ergebnis zeigte der Vergleich der fettfreien Bakterien und derselben nach Kupfersulfateinwirkung, in welchem Falle es schon zu keiner Veränderung, die durch nephelometrische Beobachtung festgestellt werden könnte, kam. Diese Beobachtung spricht scheinbar für die Gutsteinschen Versuche mit entfetteten Hefepilzen. Gutstein beweist, daß lipoidfreie Hefepilze keine Metallionen mehr aufnehmen, da sie, befreit von der Lipoidkomponente, die Fähigkeit, Kupfer zu binden, verlieren. Unsere nephelometrischen Messungen erklären die Befunde in dem Sinne, daß der Entfettungsprozeß gleichzeitig die Proteine koagulierte. Ähnliche Verhältnisse finden wir auch im nativen und durch Hitze koagulierten Serum vor. Nach Zugabe von CuSO_4 in natives und durch Hitze koaguliertes Serum wird das native Serum koaguliert, während das hitzecoagulierte unverändert bleibt. Nach Abzentrifugierung und kolorimetrischem Vergleich nach Zugabe von Na_2S ergab sich, daß natives Serum Kupfer in größerer Menge bindet, als das hitzecoagulierte. Diese Erscheinung ist aus rein physikalisch-chemischen Anschauungen sehr gut erklärbar, weil es durch den Koagulationsvorgang zu einer Oberflächenverminderung der Kolloidpartikeln kommt und dadurch die Bindungsfähigkeit der Kupferionen verkleinert ist. Dieser Befund bestätigt also auch unsere nephelometrischen Beobachtungen, die dahin gehen, daß die koagulierten bakteriellen Proteine die Eigenschaft, Kupfer in gleichem Maße wie die nativen zu binden, verlieren.

Besprechung der Resultate.

In den vorliegenden Versuchen, die eigentlich Prüfungen der Desinfektionswirkung von Thiosulfatkomplexen mit Kupfer und anderen Metallen sind, haben wir gezeigt, daß dieselben eine minimale Desinfektionswirkung besitzen. In früheren Arbeiten, in denen diese Frage behandelt wurde (Spiro, Münch. med. Wochenschr. 1915. S. 1601. Saxl, Die oligodynamische Wirkung der Metalle und Metallsalze 1924), haben die Autoren die Thiosulfatkomplexe als ziemlich starke Desinfektionsmittel bezeichnet. Der Widerspruch zwischen unseren Befunden und den vorhergehenden ist nur scheinbar. Die Thiosulfatkomplexe sind für Bakterien nicht toxisch, solange sie unzersetzt sind, was durch einen Ueberschuß an Na-Thiosulfat gewährt wird. Durch die bakterielle Tätigkeit, ferner durch die Ansäuerung, z. B. durch die atmosphärische Kohlensäure, zerfällt der Thiosulfatkomplex und läßt neue toxische Zerfallsprodukte entstehen. Diese störenden Einflüsse kann man durch einen Ueberschuß von Na-Thiosulfat ausschalten. Spricht man von einer Desinfektionswirkung des Kupferthiosulfats, dann handelt es sich in der Regel um seine Zerfallsprodukte und nicht um die Verbindung selbst. Wenn wir den Desinfektionsversuch im destillierten Wasser durchführen, wo die bakterielle Tätigkeit nicht zur Geltung kommt, ist der Zerfall des Thiosulfatkomplexes und auch die Desinfektionswirkung minimal.

In flüssigen Nährböden spalten die Bakterien den Komplex intensiver, wozu auch eine erhöhte Bildung toxischer Zerfallsprodukte hinzutritt. Die Desinfektionswirkung hängt dann wieder vom Thiosulfatüberschuß ab. In festen Nährböden, z. B. Agar, mit einem Zusatz von Kupferthiosulfat, wo der schützende Einfluß am geringsten ist, da sich der zersetzte Komplex mit dem überschüssigen Thiosulfat nicht erneuern kann, wie bei flüssigen Nährböden, ist die Desinfektionswirkung am kräftigsten. Das anfängliche Bakterienwachstum ist dann durch frei gewordene Kupferverbindungen gehemmt, so daß es zur Bildung unvollkommen entwickelter Bakterienkolonien kommt, die nicht mehr lebensfähig sind.

Es können auch umgekehrte Verhältnisse eintreten, die schon Andersen (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 105. S. 444 u. Bd. 107. S. 392) erwähnt. Die in flüssigen Nährböden an Pepton gebundenen Kupferionen werden für den Desinfektionsprozeß unwirksam. Durch Zugabe von kleinen Na-Thiosulfatmengen kommt es zum Freiwerden des Kupfers aus dem Pepton und zur Bildung eines Komplexes und nach Zerstörung des eben entstandenen Kupferthiosulfats durch die Bakterien werden die Mikroben abgetötet. Diese Beobachtung ist an kleinen Kupferdosen am deutlichsten, die ohne Thiosulfatzusatz keinerlei desinfizierende Wirkung haben.

Für die Theorie der Desinfektionswirkung finden wir viele Beiträge, die uns manches in dem Problem der Metallsalzesdesinfektion aufklären. Vor allem ist hier der Parallellismus der abtötenden Wirkung mit der Koagulation der Proteine auffällig. Mit dem Schwinden der einen, schwindet auch die andere. Die Affinität des Kupfers zu den Lipoiden bleibt aber auch nach dem Verluste der Eiweißkoagulationsfähigkeit dieselbe, sie ist sogar erhöht. Wir gelangen so zur Ansicht, daß bei den Metallsalzen der Desinfektionsprozeß eher in der Einwirkung auf die Eiweißkomponenten als die Lipoidanteile des Bakterienleibes beruht. Zu ähnlichen Resultaten kamen Cooper und Sander (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 88. S. 177), die die Parallellität der Eiweißpräzipitation und Desinfektionswirkung bei Phenolen betonen. Nach ihrer Angabe beruht die Desinfektionswirkung auf der Veränderung der kolloidalen Struktur der bakteriellen Proteine. In dieser Hinsicht sind unsere Versuche mit Alkohol außerordentlich interessant, da es uns gelang, nach Zusatz von Na-Thiosulfat die Desinfektionswirkung des Alkohols zu verringern. Danach beruht die Alkoholdesinfektion auch auf einer Alteration der Bakterienproteine.

Wenn wir nun die Ergebnisse unserer Versuche überblicken, gelangen wir zu der Ansicht, daß es bei der Desinfektion der Bakterien durch Kupfer und durch die von uns geprüften Metallsalze mehr auf deren Verhalten zu dem Eiweiß- als zu dem Lipoidanteil des Bakterienleibes ankommt. Wir hielten es aber für verfehlt, dem lipoiden Teil jegliche Bedeutung im Desinfektionsprozeß abzusprechen. Es muß jedoch auf Grund unserer Versuche zugegeben werden, daß die Veränderungen, welche die Schwermetalle in den Lipoiden bewirken, keine so weitgehenden sind, daß sie unvereinbar wären mit dem Weiterleben der Bakterien.

Nach Abschluß unserer Versuche veröffentlichte Schumacher im Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 107. S. 175 seine Bemerkungen zu Gutsteins Artikel „Zur Theorie der Desinfektion“ im Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 104. S. 410. Darin äußert Schumacher auf Grund seiner mikrochemischen Studien an Bakterien ebenfalls die Ansicht, daß die Rolle der Lipide bei der Desinfektion durch Metallsalze keine so große ist, wie Gutstein es annimmt.

Nachdruck verboten.

Ueber erzwungene Antagonisten.

VI. Mitteilung.

[Aus dem Reichslaboratorium für Chemie und Bakteriologie und aus dem Laboratorium der Tuberkulosefürsorgestelle des Roten Kreuzes in Odessa.]

Von Dr. **Ignaz Schiller** und Dr. **Alexander Giltseher** (Odessa).

Ueber das Prinzip des erzwungenen Antagonismus und über die mannigfachen Fragen, die mit ihm im Zusammenhange stehen, wurde in einer ganzen Reihe von Mitteilungen und besonders ausführlich in der V. Mitteilung¹⁾ berichtet, in welcher wir auch eine Zusammenfassung der bis jetzt gewonnenen Resultate gegeben haben. Somit glauben wir berechtigt zu sein, direkt zu unserem Thema überzugehen.

Unsere Versuche schließen sich denjenigen an, über die wir in unserer Abhandlung „*Sur l'antagonisme provoqué*“ (*Bactéries et Hématies*)²⁾ berichtet haben.

In derselben wurde nachgewiesen, daß der Antagonismus nicht nur zwischen 2 Mikroorganismen (2 Bakterienarten, Bakterien und Hefen usw.) hervorgerufen werden kann, sondern daß das Prinzip breiter gefaßt werden muß und seine Gültigkeit auch in bezug auf die Zellen der höheren Organismen bewährt. Wenn anhämolytische Streptokokken sich zusammen mit gewaschenen roten Blutkörperchen im Hungermilieu befinden (physiologische Kochsalzlösung), also keinen löslichen Stickstoff vor sich haben, so lösen sie die Blutkörperchen auf, um solche als Nahrungsquelle zu benutzen. Die Hämolyse wird dadurch zustande gebracht, daß die Bakterien eine lytische Substanz ausschcheiden, die auf neue Blutkörperchen auch außerhalb der Bakterien (im Zentrifugat) wirkt. Der Hämolyse geht eine sehr deutliche Agglutination der Blutkörperchen voraus.

Wir haben uns hier die Aufgabe gestellt, Bakterien (grampositive proteolytische Bazillen und Kokken) in Antagonisten der Spermatozoen des Menschen und Meerschweinchens zu verwandeln. Wir gingen in der Weise vor, daß wir wie in den erwähnten Versuchen mit Erythrozyten die Spermatozoen und die Bakterien in einem Hungermilieu zusammenbrachten. Auf diese Weise wurden die Spermatozoen vor die Alternative gestellt, entweder zu verhungern und der Selbstverdauung zu verfallen oder aber die Spermatozoen aufzulösen und sie zur Nahrung zu verwenden. Wie a priori zu erwarten war, wählten die Bakterien den 2. Weg.

Bekanntlich existiert über die Bildung von spermatoxischen Substanzen auf immunologischem Wege eine umfangreiche Literatur.

Schon Metschnikoff befaßte sich mit dieser Frage. Aehnlich, wie die Immunisierung mit Erythrozyten zur Produktion von Ambozeptoren führt, die im Verein mit dem Komplement ihr Antigen schädigen und es durch Verdauungsvorgänge auflösen, gelingt es auch, durch Immunisierung mit Spermatozoen, die in einem Hungermilieu mit Bakterien zusammengebracht werden, die Spermatozoen zu zerstören.

1) Schiller, Ignaz, Ueber erzw. Antagonisten. V. Mitt. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 103. 1927.)

2) Schiller, Ignace, Compt. rend. Soc. de Biol. T. 98. 1927. p. 1274.

matozoen „Spermatoxine“ zu gewinnen, die mehr oder weniger spezifisch auf ihr Antigen einwirken. Die von Metschnikoff und anderen Autoren (Landsteiner, Moxter, London usw.) durch Immunisierung mit Sperma gewonnenen Substanzen sind dadurch charakteristisch, daß sie die Spermatozoen nur zu immobilisieren imstande sind; es fehlt ihnen aber das Vermögen, die Spermatozoen aufzulösen.

Wie wir weiter sehen werden, bilden die erzwungenen Antagonisten im Hungermilieu Stoffe, die wirksamer sind als die spermatotoxischen Sera.

Material und Technik.

Das menschliche Sperma, welches zu unseren Versuchen verwendet wurde, stammt aus dem Material, das zur Untersuchung in das Reichslaboratorium gelangt war. Zu den Versuchen wurde nur solches Sperma verwandt, welches mindestens 90 Proz. beweglicher und strukturell normaler Spermatozoen enthielt. Die Technik ist dieselbe wie in anderen von uns angestellten Versuchen zu der Frage über den erzwungenen Antagonismus im Hungermilieu (spezieller Fall des erzwungenen Antagonismus). Beim menschlichen Sperma muß man immer damit rechnen, daß während der Ejakulation Urethrabakterien mitgeschleppt werden, welche das Sperma verunreinigen. Da der erzwungene Antagonismus nur zwischen 2 Zellarten hervorgerufen werden kann, so suchten wir das Wachstum der Urethrabakterien dadurch zu hemmen, daß große Mengen von grampositiven proteolytischen Bakterien zum Versuche gebraucht wurden. Die Rolle der Verunreinigungsbakterien wurde somit auf das Minimum beschränkt. Das Meerschweinchensperma wurde aus dem Hoden nach Exstirpation desselben entnommen.

Experimenteller Teil.

Zur Verdauung der Spermatozoen wurden grampositive proteolytische Bakterien verwendet, und zwar Kokken und Bazillen der *Subtilis-Mesentericus*-Gruppe. Das Verhalten der gramnegativen Bakterien im Hungermilieu wurde von uns nicht untersucht. Wir glauben aber auf Grund unserer Untersuchungen über die Verdauung der lebenden Hefezellen¹⁾ durch Typhus- und Paratyphusbakterien, daß ihr Verhalten den Spermatozoen gegenüber nicht wesentlich anders ist, wie das der grampositiven Bakterien.

Versuch Nr. 1 vom 11. 2. 28. Zu 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung werden 2 ccm frischen Spermas mit beweglichen Spermatozoen zugesetzt. Ist das Sperma auf den Boden des Reagenzglases gesunken, so wird die physiologische Kochsalzlösung entfernt und frische Kochsalzlösung (2 ccm) dem Sperma zugesetzt. Auf diese Weise kann man eine relative Reinigung des Spermas erzielen. Nach dem Waschen setzen wir zu den Spermatozoen eine ganze, 24—48 stünd. Saccharoseagarkultur von *Bacillus subtilis*, bestehend aus Sporen und Stäbchen, zu. Nach 24stünd. Verweilen des Milieus im Brutschranke bei 37° C bildet sich auf der Oberfläche desselben ein dicker Schleier, und am Boden des Reagenzglases sieht man einen weißgelben Niederschlag. Das ganze Milieu ist trübe. Nach 48 Std. finden wir bei der mikroskopischen Untersuchung im hängenden Tropfen in 22 Gesichtsfeldern nur 55 Spermatozoen, anstatt 180—200 pro Gesichtsfeld der Kontrolle (physiologische Kochsalzlösung). Von den 55 Spermatozoen waren nur 27 normal, alle übrigen aber wiesen hochgradige Schädigungen auf, und zwar bestanden sie nur aus dem Kopfteile oder aber aus dem Kopfe und einem kleinen Schwanzreste.

1) Schiller, Ignaz, Ueber erzw. Antagonisten. III. Mitt. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 94. 1924). S. auch die V. Mitt. I. c.

An den nach Gram gefärbten Präparaten konnten wir ungefähr dieselben Zahlen feststellen. Die Subtilis-Stäbchen sind nicht nur an der Oberfläche, sondern auch in der Tiefe des Milieus vertreten. Dieselben weisen eine Nesterbildung auf, die nichts anderes ist als eine Vermehrungsstätte der Bakterien um die Spermatozoen. Urethra- und andere Bakterien sind sehr wenig vorhanden.

Versuch Nr. 2 vom 26. 2. 28. Zu 1,5 ccm frischen Spermas wird eine ganze Saccharoseagarkultur von *B. subtilis* zugesetzt. Nach 24 Std. (bei 37° C) bildet sich an der Oberfläche des Spermas ein dicker Schleier. Nach 48 Std. sind weder bei der Untersuchung im hängenden Tropfen noch am gefärbten Präparate (Gram) Spermatozoen vorhanden. Die Subtilis-Stäbchen sind außer an der Oberfläche auch in der Tiefe nachzuweisen. Auch hier ist die Nesterbildung der Stäbchen deutlich erkennbar.

Versuch Nr. 3 vom 1. 3. 28. Zu 1,5 ccm menschlichen Spermas wird eine Emulsion von einer ganzen Saccharoseagarkultur von grampositiven proteolytischen Kokken in physiolog. Kochsalzlösung zugesetzt. Nach 24 Std. sind die Spermatozoen noch sehr zahlreich, die meisten aber beschädigt. Die Art, wie die Zerstörung der Spermatozoen vor sich geht, läßt sich am gefärbten Präparate sehr schön verfolgen. Die Kokken sind direkt auf den Spermatozoen gelagert; auf dem langen und dünnen Spermatozoenschwanz sind sie genötigt, sich kettenweise zu ordnen (auf den üblichen Nährböden bilden sie keine Ketten). Am widerstandsfähigsten scheint der Spermakern zu sein, um den sich Kokkenhäufchen sammeln, die ihn schließlich auflösen.

Die Spuren der verdauten Spermatozoen lassen sich an der Kokkennesterbildung und den Ketten erkennen. Die Verdauung der Spermatozoen durch die Kokken geht langsamer vor sich als durch die proteolytischen Stäbchen. Erst am 4.—5. Tage werden alle Spermatozoen aufgelöst.

Bekanntlich wirken oft die Bakterienstoffwechselprodukte der Saprophyten schädigend auf die tierischen Zellen und rufen nachweisliche Veränderungen an ihnen hervor. Maurice Nicolle konnte z. B. diesen Nachweis für den *B. subtilis* erbringen, eine Tatsache, die später von mehreren Autoren bestätigt wurde. Um dem Einwande gerecht zu werden, daß es sich in unseren Versuchen nicht um Schädigungen der Spermatozoen durch die Produkte des normalen Bakterienstoffwechsels handelt, haben wir folgende Kontrollversuche angestellt:

Kontrollversuch Nr. 1 vom 1. 4. 28. Es werden 2 Tropfen des Filtrats einer 48stünd. Bouillonkultur vom *B. subtilis* mit einem Tropfen von beweglichen Spermatozoen zusammen gemischt. Nach 2 Std. behalten die Spermatozoen ihre normale Beweglichkeit, nach 24 St. sind auf dem gefärbten Präparate 200 Spermatozoen pro Gesichtsfeld nachgewiesen worden; alle waren normal.

Es ist für den erzwungenen Antagonismus charakteristisch, daß nur unter bestimmten, von der Versuchsperson gewählten Bedingungen, der Kampf zwischen den Zellen entsteht (eine Zelle wird von der anderen lebend verdaut). Unter normalen Bedingungen gedeihen diese Zellen sehr gut zusammen.

Wie der folgende Kontrollversuch beweist, gilt dieser Satz auch für das Verhalten der Bakterien den Spermatozoen gegenüber.

Kontrollversuch Nr. 2 vom 11. 2. 28. Der Nährbouillon werden 2 ccm Sperma zugesetzt, gleichzeitig wird das Milieu mit *B. subtilis* geimpft. Nach 24 Std. hat sich auf der Oberfläche der Bouillon ein dicker Schleier gebildet, die Bouillon selbst ist aber ganz klar geblieben. Das Sperma liegt am Boden des Reagenzglases. Mikroskopisch sind 180—200 Spermatozoen pro Gesichtsfeld nachweisbar. Weder die Subtilis-Stäbchen, noch die Urethrabakterien haben sich auf Kosten der Spermatozoen vermehrt, denn es haben sich keine Nester um die Spermatozoen gebildet.

Dieselben Resultate wurden auch mit den grampositiven proteolytischen Kokken erzielt.

Dieser Kontrollversuch liefert den Beweis dafür, daß in Gegenwart gelöster Stickstoffe die Spermatozoen von den Bakterien nicht angegriffen werden. Wir haben es also in unseren Versuchen mit einem typischen Fall vom erzwungenen Antagonismus zu tun.

In der physiologischen Kochsalzlösung verlieren die Spermatozoen ihre Beweglichkeit nach 3—3½ Std.

Die Aufschwemmung von *B. subtilis* und grampositiven Kokken in physiologischer Kochsalzlösung (Saccharoseagarkultur) hat eine sehr schwache immobilisierende Wirkung auf die Spermatozoen, welche erst nach 2—3 Std. zutage tritt, und zwar wenn sich die Bakterien auf Kosten der Spermatozoen zu vermehren beginnen. Morphologische Veränderungen an den Spermatozoen

werden nicht beobachtet. Auch diese Kontrollversuche beweisen, daß die von uns verwendeten Bakterienarten keine natürlichen Antagonisten der Spermatozoen sind (letztere bilden spermotoxische Substanzen in Reinkultur), sondern werden in Antagonisten verwandelt. Die Auflösung der Spermatozoen im Hungermilieu durch grampositive proteolytische Stäbchen oder Kokken ist nichts anders als ein Verdauungsprozeß dieser Bakterien zu deuten.

Versuch Nr. 4 vom 4. 3. 28. 2 ccm menschlichen Spermas werden in 3 ccm physiologischer Kochsalzlösung emulsiert und eine ganze Saccharoseagarkultur von *B. subtilis* wird hinzugegeben. Nachdem die Spermatozoen vollständig durch die Bakterien verdaut sind, wird das Milieu durch scharfes Zentrifugieren ($\frac{1}{2}$ Std.) von den Bakterien und Sporen befreit. Man bekommt nun eine durchsichtige, gelbe bis gelbbraune Flüssigkeit. Durch Evaporieren bei 37° C wird ihr Volumen auf 3 ccm gebracht. Wenn wir jetzt zu einem Tropfen Spermas mit beweglichen Spermatozoen einen Tropfen des Zentrifugats zusetzen, so werden die Spermatozoen von der 7. Min. an bis zu der 15. sämtlich immobilisiert. 3 Tropfen des Zentrifugats immobilisieren einen Tropfen des Spermas nach 2—3 Min. Die Wirkung des Zentrifugats auf die Spermatozoen läßt sich am hängenden Tropfen sehr schön verfolgen. Man kann drei Momente, welche der Immobilisierung vorausgehen, unterscheiden. Erst wird das Vorwärtsschreiten verlangsamt, dann tritt eine Bewegung der Spermatozoen auf dem Platze ein. Es wird der Versuch gemacht, durch energische Schwanzschwingungen weiter zu kommen, der aber fehlschlägt. Endlich sistiert die Bewegung vollständig.

Versuche, wie der eben beschriebene, wurden auch mit unverdünntem Sperma, welches vom *B. subtilis* verdaut wurde, ausgeführt, und zwar mit ungefähr denselben Resultaten. Auch hier ist die Konzentration des Zentrifugats in bezug auf die Schnelligkeit der Immobilisierung maßgebend. Nach dieser tritt allmählich eine Agglutination ein, die ihr Maximum nach 24 Std. (bei Zimmertemperatur) erreicht.

Der Agglutination der Spermatozoen folgt eine Auflösung derselben. Die Zytolyse beginnt schon nach $\frac{1}{4}$ Std. und der Grad derselben wird, wie wir schon früher bei Besprechung anderer Fälle des erzwungenen Antagonismus hervorgehoben haben, von der Quantität der Spermatozoen und Bakterien bestimmt. Die auflösende Kraft der lytischen Substanz, die infolge einer Verdauung von 2,0 Sperma durch den *B. subtilis* entstanden ist, ist nicht stark genug, um alle neu zugesetzte Spermatozoen gleichmäßig aufzulösen. Nach $\frac{1}{4}$ bis $\frac{1}{2}$ Std. werden pro Gesichtsfeld nur 5—10 Spermatozoen (Gramfärbung) beschädigt. Die Schädigungen sind verschiedener Natur: man sieht stark aufgequollene, kugelförmige Köpfe, einige Spermatozoen sind ihrer Schwänze beraubt, andere weisen ein mangelndes Vermögen auf, sich mit Fuchsin zu färben, indem ein Teil des Schwanzes rot erscheint, der andere aber entweder schmutzig-rot oder hellrosa ist.

Nach 1 Std. sind 10—20 Proz. der Spermatozoen (pro Gesichtsfeld) durch die lytische Substanz getroffen. Man begegnet Spermatozoen, die in ihrer gesamten Struktur beschädigt sind: der Kern wie der Schwanz treten als „Schatten“ auf. Die Auflösungserscheinungen können so weit vor sich gehen, daß man nur einzelnen kaum erkennbaren Bestandteilen der Spermatozoen begegnet. Der Höhepunkt der Spermatozoenlyse wird erst nach 24 Std. (37° C oder Zimmertemperatur) erreicht.

Die vom *B. subtilis* ausgeschiedene Substanz löst nicht nur die homogenen Spermatozoen auf, sondern auch Spermatozoen anderer Tierarten, z. B. des Meerschweinchens.

Proteolytische Kokken bilden bei der Verdauung der Spermatozoen Substanzen, welche in derselben Weise, wie wir es für *B. subtilis* beschrieben haben, die Spermatozoen auflösen.

Die lytische Substanz, die von den erzwungenen Antagonisten (proteolytisch grampositiven Bazillen und Kokken) ausgeschieden wird, ist ohne Wirkung auf die Gelatine und auf Blutfibrin. Wir begegnen dieser Tatsache in allen Fällen, wo der erzwungene Antagonismus sich im Hungermilieu abspielt. In unserer III Mitteilung¹⁾ (Verdauung der Hefen durch die Bakterien) haben wir darüber gesprochen. Da bei der Verdauung der lebenden Bakterien, Hefen und anderer Zellen durch die Bakterien die Eiweißmoleküle weitgehend gespalten werden und nur die Biuretreaktion aufweist, so verdient diese Tatsache unsere Aufmerksamkeit in bezug auf die Bildung durch die erzwungenen Antagonisten von atypischen Fermenten.

Unsere Versuche¹⁾ bilden einen weiteren Beitrag zu der Frage des erzwungenen Antagonismus zwischen Bakterien und Zellen der höheren Organismen.

Die Möglichkeit, auf Grund des erzwungenen Antagonismus diese Zellen zu agglutinieren und aufzulösen, eröffnet ein weites Arbeitsfeld in bezug auf die Gewinnung von Lysinen, welche die normalen und, was noch wichtiger ist, die pathologischen Zellen (Neoplasmen) aufzulösen imstande wären.

Die Aufgabe der nächsten Forschung wird feststellen, inwieweit die zytolytischen Substanzen der erzwungenen Antagonisten innerhalb des tierischen Organismus wirksam sind.

Eine weitere Aufgabe ist, zu erforschen, ob die erzwungenen Antagonisten imstande sind, außer der von uns beschriebenen und von anderen Autoren bestätigten Agglutinin- und Lysinbildung auch antitoxische Substanzen zu produzieren. Damit wäre die Analogie zwischen der Immunitätserscheinung der höheren Lebewesen und dem erzwungenen Antagonismus²⁾ noch weiter gerückt.

Wir hoffen, in der nächsten Zeit diese wichtigen Fragen in Angriff zu nehmen.

Zusammenfassung der Resultate.

1) Im Hungermilieu (physiologische Kochsalzlösung) werden die Spermatozoen des Menschen von grampositiven proteolytischen Bazillen (*B. subtilis*) und von Kokken verdaut. — 2) Wenn diese Bakterien sich zusammen mit Spermatozoen in der Bouillon befinden, also Stickstoff in gelöster Form vor sich haben, so greifen sie die Spermatozoen nicht an. — 3) Die Stoffwechselprodukte des *B. subtilis* und der proteolytischen Kokken haben keine Wirkung auf die Spermatozoen. — 4) Die Verdauung der Spermatozoen durch die erzwungenen Antagonisten geschieht in derselben Weise wie die Verdauung durch Bakterien durch Ausscheidung von unlöslichen Eiweißsubstanzen: einer proteolytischen Substanz. — 5) Die Quantität dieser ausgeschiedenen Substanz entspricht der Zahl der im Milieu befindlichen Bakterien und Spermatozoen. — 6) Die bakteriolytische Substanz wirkt auch außerhalb der

1) Schiller, I., Ueber „erzwungene“ Antagonisten. III. Mitteilung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 94. 1924.)

2) Schiller, I., Ueber erzwungene Antagonisten. V. Mitteilung (l. c.).

Bakterien (nach Abzentrifugieren), indem sie neue (lebende) Spermatozoen immobilisiert, agglutiniert und auflöst. — 7) Der Auflösung geht eine Agglutination voraus. — 8) Die spermatolytische Substanz ist nicht streng spezifisch — 9) Die spermatolytische Substanz, obwohl von proteolytischen Bakterien ausgeschieden, ist ohne Wirkung auf die Gelatine und auf Blutfibrin.

Odessa, den 3. Mai 1928.

Nachdruck verboten.

Nachtrag

zu dem Verzeichnis der Arbeiten des Prof. Dr. Hugo Plaut.

(Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 107. 1928. Heft 6/7.)

Von Prof. Dr. Brauer.

II. Monographien und Aufsätze medizinischen Inhalts.

30) Gibt es in Hamburg wirklich eine Mikrosporie? (Monatsh. f. prakt. Dermatol. Hamburg u. Leipzig. Bd. 31. 1900.) — 30a) Ueber eine neue Methode zur Konservierung von Gelatinekulturen. (Fortschr. d. Med. [Fischer, Berlin]. Bd. 4. Nr. 13. 1886.) — 31) Die pathogenen Mikroorganismen in Milch und Milchprodukten. (Die Milch und ihre Bedeutung f. Volkswirtsch. u. Volksgesundheit. Hamburg 1903.) — 31a) Zur Sterilisationstechnik. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 3. 1888.) — 32) Beitrag zur systematischen Stellung der Dermatomykosenerreger. (Monatsh. f. prakt. Dermat. Hamburg. Bd. 38. 1904.) — 33) Sur l'angine ulcéreuse. (Gaz. des hôpit. Fév. 14. 1905.) — 34) Sur l'angine ulcéro-membraneuse. (Gaz. des hôp. Mars 7. 1905.) — 35) Le bacille fusiforme et le bacillus sputigène dans les angines ulcéreuses. (C. r. Soc. de Biol. 19. 5. 1905.) — 36) Favus, Sykosis, Mikrosporie, Trichophytie (in Realencyklopädie d. ges. Heilk.). Herausg. A. Eulenburg. 4. Aufl. Berlin 1909. — 37) Agglutinationstechnik und Wert der Dunkelfeldbeleuchtung beim Studium der Anaërobier. (Dtsch. med. Wochenschr. 1917. Nr. 10.) — 38) Untersuchungen über die Biologie der Bakterien der Gasödemgruppe. (Med. Klin. 1918. Nr. 24.) — 39) Beitrag zur Geschoßuntersuchung auf aërobe und anaërobe Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 81. 1918. S. 1.) — 40) Behandlung der Trichophytie. (Prakt. Ergebn. d. gesamt. Med. v. Th. Brugsch. Berlin-Wien 1921.) — 40a) Lungenangrän und fusospirilläre Symbiose. (Deutsch. med. Wochenschr. Nr. 50. 1920. — 41) Wird die Bakteriologie des Mittelohrs überschätzt? (Arch. f. Ohrenheilkd. 110. 1923.) — 42) Demonstration einiger Trichophytonkulturen. (Münch. med. Wochenschr. 1900. Nr. 28.) — 43) Ueber eine neue Kulturmethode für Schimmelpilze. (Ebenda. 1902. Nr. 5.) — 44) Dieselbe Methode für Favus. (Ebenda. 1902. Nr. 14.) — 45) Diskussion über Delbancos Vortrag über pathogene Hefenkulturen. (Ebenda. 1904. Nr. 4.) — 46) Ueber Plaut-Vincent'sche Angina. (Ebenda. 1905. Nr. 27.) — 47) Demonstration von 2 Fällen v. Stomatitis ulcero-membranosa mit Salvarsan behandelt. (Ebenda. 1911. Nr. 51.) — 48) Kerion Celsi durch Blastomyceten erzeugt. (Ebenda. 1915. S. 402.) — 49) Ueber Streptothrix Foersteri. (Hamburger Aerzte Korresp. 1916. Nr. 11.) — 50) Zur Gewinnung anaërober Reinkulturen. (Ebenda. 1917. Nr. 45.) — 51) Ueber Lungenaktinomykose. (Ebenda. 1921. Nr. 8.)

Aufnahmebedingungen für das Centralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektions- krankheiten.

Die Manuskripte müssen **druckfertig** eingesandt werden.

Arbeiten, welche den Umfang von 2 Druckbogen überschreiten, müssen bis auf weiteres von der Aufnahme ausgeschlossen werden. Auch können Tafeln, Textfiguren, Kurven, Tabellen usw. nur in beschränkter Anzahl beigegeben werden. Weitergehende Wünsche können nur Berücksichtigung finden, wenn die über das vorgesehene Maß hinausgehenden Herstellungskosten von den Verfassern getragen werden.

Inhalt.

- Brauer**, Nachtrag zu dem Verzeichnis der Arbeiten des Prof. Dr. Hugo Plaut. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 107. 1928. Heft 6/7.), S. 487.
- Braun, H., u. Goldschmidt, R.**, Ueber den anaeroben Verwendungsstoffwechsel der Coli- und Paratyphus-B-Bazillen. II. Mitteilung, S. 353.
- David, Hans**, Ueber die Stellung der Ratinbakterien und anderer Rattenschädlinge zur „Gärtner-Gruppe“. Mit 4 Abbildungen im Text, S. 416.
- Dold, H., u. Müller, H.-R.**, Ueber die Notwendigkeit einer einheitlichen Methode zum Nachweis hämolytischer Streptokokken (Scharlachstreptokokken), S. 392.
- Friede, K. A.**, Studies on heterogeneous anaphylaxis, S. 462.
- Fülleborn, F.**, Ueber den Infektionsweg bei *Rhabdias bufonis* (*Rhabdonema nigrovenosum*) des Frosches nebst Versuchen über dessen Lymphzirkulation. Mit 3 Abbildungen im Text und 1 Tafel, S. 444.
- Gundel, M.**, Die Enterokokken, S. 384.
- Leuchs, J., u. Plochmann, E.**, Ueber Ruhrbazillen vom Typus E (Kruse), S. 398.
- Mann, W.**, Bakteriologische Beobachtungen während der Typhusepidemie in Hannover im Herbst 1926, S. 361.
- Schiller, Ignaz, u. Giltseher, Alexander**, Ueber erzwungene Antagonisten. VI. Mitteilung, S. 482.
- ter Poorten, F. H.**, Beitrag zur Kenntnis der Darmprotozoen in den Niederlanden, insbesondere der *Entamoeba histolytica*. Mit 1 Abbildung im Text, S. 406.
- Vignati, J., u. Schnabel, P.**, Beitrag zur Kenntnis der Desinfektionswirkung der Metallsalze. I. Teil. Desinfektion und Entwicklungshemmung bei Kupfersalzen, S. 464.
- , —, Beitrag zur Kenntnis der Desinfektionswirkung der Metallsalze. II. Teil. Der Desinfektionsvorgang, S. 475.
- Vogel, Hans**, Ueber die Nematodengattung *Oslerus* Hall, 1921 und zwei neue Arten derselben: *Oslerus cynopitheci* und *Oslerus felis*. Mit 13 Abbildungen im Text und 1 Tafel, S. 430.
- Yamamoto, S.**, Ueber den biologischen Unterschied zwischen nativem und gekochtem Antigen von Pneumokokken. I. Mitteilung: Unterschied bei Erzeugung des Opsonins im Blute. Mit 4 Kurven im Text, S. 375.
- , Ueber den biologischen Unterschied zwischen nativem und gekochtem Antigen von Pneumokokken. II. Mitteilung: Unterschied bei Erzeugung des Agglutinins im Blute. Mit 2 Kurven im Text, S. 381.

Inhaltsverzeichnis.

I. Verzeichnis der in Band 109 enthaltenen Arbeiten.

- Anjow, Saburo**, Vergleichende Untersuchungen über die Widerstandsfähigkeit verschiedener Leptospiren (Spirochäten) gegen äußere Einflüsse. 61
- Arnold, A.**, s. Seiffert, G.
- Belawine, W. S.**, s. Yakimoff, W. L.
- Brauer**, Nachtrag zu dem Verzeichnis der Arbeiten des Prof. Dr. Hugo Plaut. 487
- Braun, H.**, u. **Goldschmidt, R.**, Ueber den anaëroben Verwendungsstoffwechsel der Coli- und Paratyphus B-Bazillen. 353
- Braun, H.**, und **Weil, A. J.**, Ueber den Ruhrbazillus Kruse-Sonne. 16
- Brekenfeld**, Gebrauchen wir ein einheitliches, umfassend polyvalentes Paratyphus-serum? 225
- de Buck, A.**, **Schoute, E.**, u. **Swellingrebel, N. H.**, Studien über Anophelis-mus ohne Malaria in der Umgebung Amsterdams. 251
- David, Hans**, Ueber die Stellung der Ratinbakterien und anderer Rattenschädlinge zur „Gärtner-Gruppe“. 416
- Dold, H.**, u. **Gildemeister, E.**, Neue Kulturschalen. 344
- Dold, H.**, u. **Müller, H.-R.**, Ueber die Notwendigkeit einer einheitlichen Methode zum Nachweis hämolytischer Streptokokken (Scharlachstreptokokken). 392
- Eksempljarskaja, E. W.**, Ueber normale Hämolysine bei Tieren, die in ihren Erythrozyten heterogene Antigene enthalten. 341
- Elbert, B. J.**, u. **Gerkess, W. M.**, Ueber die Wirkung der Galle auf Sklerombazillen. 310
- Friede, K. A.**, Studies on heterogeneous anaphylaxis. 462
- Fülleborn, F.**, Ueber den Infektionsweg bei Rhabdias bufonis (Rhabdonema nigro-venosum) des Frosches, nebst Versuchen über dessen Lymphzirkulation. 444
- Fujitsuna, S.**, Ueber das Verhalten der Phagozytose immunogener Substanzen zu der durch sie herbeigeführten Immunität, unter besonderer Berücksichtigung des Koktoimmunogens sowie über die immunologische Trias. 93
- Gerkess, W. M.**, s. **Elbert, B. J.**
- Gildemeister, E.**, s. **Dold, H.**
- Giltseher, Alexander**, s. **Schiller, Ignaz**.
- Gmeiner, F.**, Ueber die Wertbestimmung des Milzbrandserums nach Al. Lusztyg. 247
- Goldschmidt, R.**, s. **Braun, H.**
- Groß, Hans**, Ueber den Einfluß parenteral gegebener Lipoide auf die Hämolysinsbildung bei Kaninchen. 8
- Untersuchungen über die Rolle der Individualität und deren mögliche Beeinflussung durch oral gegebene Lipoide für die Hämolysinsbildung bei Kaninchen. 339
- Gundel, M.**, Die Enterokokken. 384
- von Gutfeld, Fritz**, u. **Pineussen, Ludwig**, Untersuchungen über die Wirkung des Lichtes auf Bakterien. 107
- Haagen, E.**, Ueber das Verhalten des Variola-Vakzinevirus in der Gewebekultur. 31
- Haupt, H.**, Ein Beitrag zur kulturellen Unterscheidung des Pfeifferschen Pseudotuberkulosebazillus von ähnlichen vogelpathogenen Bakterienarten (Bact. avicidum und Bact. gallinarum). 1
- Ischimoto, Y.**, Ueber die Rolle der Lipoide der Mikroben bei ihrer Phagozytose im Blutkreislaufe der Versuchstiere. II. Mitteilung: Einfluß gleichnamiger bzw. un-

- gleichnamiger Lipoide auf die Phagozytose der Staphylokokken im zirkulierenden Blute. 100
- Jahneke, A., s. Seiffert, G.**
- Kaschajewa, A. A., s. Klujewa, N. G.**
- Kathe, Das sogenannte Schlammfieber in den Jahren 1926 und 1927. Beiträge zur Symptomatologie, Epidemiologie, Pathologie und Aetiologie. 284**
- Kemkes, B., Plasmakoagulase und Pathogenität der Staphylokokken. 11**
- Kikuth, W., Ueber den Einfluß von Jensen-Sarkom auf die infektiöse Rattenanämie und ihre Erreger. 51**
- Klujewa, N. G., u. Kaschajewa, A. A., Zur Aetiologie der epidemischen Grippe. 232**
- Kopp, R., Verbesserungen am Bunsenbrenner für den Gebrauch in bakteriologischen Laboratorien. 98**
- Koulen, K., s. Küster, E.**
- Küster, E., u. Koulen, K., Untersuchungen zur Amino-Stickstoffbestimmung mit Ninhydrin bei der Abderhalden-Reaktion und bei der Erforschung des Bakterienstoffwechsels. 135**
- Leuchs, J., u. Plochmann, E., Ueber Ruhrbazillen vom Typus E (Kruse). 398**
- Mann, W., Bakteriologische Beobachtungen während der Typhusepidemie in Hannover im Herbst 1926. 361**
- Meyer, Kurt, Ueber Aeskulinnährböden. 350**
- Müller, H.-R., s. Dold, H.**
- Neisser, M., Bemerkungen zu der Arbeit von W. Blumenberg „Ueber den Indol-titer nach Gersbach zur Begutachtung von Wasserproben“. 346**
- Neumann, Franz, Die Sichtbarmachung von Bakteriengeißeln am lebenden Objekt im Dunkelfeld. II. Mitteilung. 143**
- Nieschulz, Otto, Zoologische Beiträge zum Surraproblem. XXII. Uebertragungsversuche mit Anopheles fuliginosus Gil. 327**
- Pineussen, Ludwig, s. v. Gutfeld, Fritz.**
- Plochmann, E., s. Leuchs, J.**
- ter Porten, F. H., Beitrag zur Kenntnis der Darmprotozoen in den Niederlanden, insbesondere der Entamoeba histolytica. 406**
- Regendanz, P., Ueber die Bedeutung der Milz bei der Spirochäteninfektion. 321**
- Riddell, W., Gordiidae as parasites of man. 331**
- Rubkewitsch, S. F., s. Yakimoff, W. L.**
- Schiller, Ignaz, u. Giltseher, Alexand., Ueber erwungene Antagonisten. VI. Mitteilung. 482**
- Schmidt, W., Ein Beitrag zur experimentellen Erzeugung von Tiertumoren. 44**
- Schnabel, P., s. Vignati, J.**
- Schoute, E., s. de Buck, A.**
- Schumacher, Josef, Zur Gramschen Färbung. Ueber die chemische Zusammensetzung der Lipidsäure und über künstlich grampositiv gemachte Hefezelle. 181**
- Seiffert, G., Jahneke, A., u. Arnold, A., Zeitliche Untersuchungen über den Ablauf übertragbarer Krankheiten, I.—III. (Mäuse typhus). 193**
- Seitz, A., Endokrine Drüsen und Abwehr. II. Mitteilung. 115**
- Shiozawa, Soichi, Immunologische Beziehung zwischen verschiedenen Leptospiiren. 80**
- Swellengrebel, N. H., s. de Buck, A.**
- Ueyama, Yoshiaki, Ueber eine neue Art von Hepaticola, Hepaticola muris n. sp. und deren Bedeutung für die Epithelwucherung. 55**
- Vignati, J., u. Schnabel, P., Beitrag zur Kenntnis der Desinfektionswirkung der Metallsalze. I. Teil: Desinfektion und Entwicklungshemmung bei Kupfersalzen. 464**
- — Beitrag zur Kenntnis der Desinfektionswirkung der Metallsalze. II. Teil: Der Desinfektionsvorgang. 475**
- Vogel, Hans, Ueber die Nematodengattung Oslerus Hall, 1921 und zwei neue Arten derselben: Oslerus cynopithecii und Oslerus felis. 430**
- Weil, A. J., s. Braun, H.**
- Weyrauch, F., Kann durch Darreichung von Narkoticis eine positive Wassermann-Reaktion oder Meinickes Trübungsreaktion im Serum vorgetäuscht oder zum Verschwinden gebracht werden? 129**
- Yakimoff, W. L., Belawine, W. S., u. Rubkewitsch, S. F., Die Immunisation mit Hilfe von Bayer 205 (Naganol) gegen die Beschälseuche. 48**
- Yamamoto, S., Ueber den biologischen Unterschied zwischen nativem und gekochtem Antigen von Pneumokokken. I. Mitteilung: Unterschied bei Erzeugung des Opsonins im Blute. 375**
- Ueber den biologischen Unterschied zwischen nativem und gekochtem Antigen von Pneumokokken. II. Mitteilung: Unterschied bei Erzeugung des Agglutinins im Blute. 381**

II. Sachverzeichnis.

- Abderhalden-Reaktion, Aminostickstoffbestimmung mit Ninhydrin. 135
 Aeskulinnährböden. 350
 Agglutinine, Erzeugung mit nativem und gekochtem Antigen. 381
 Amino-Stickstoffbestimmung mit Ninhydrin. 135
 Amsterdam, Anophelismus ohne Malaria. 251
 Anaphylaxie, heterogene. 462
 Anopheles fuliginosus, Ueberträger des Trypanosoma Evansi. 327
 Anophelismus ohne Malaria. 251
 Antagonisten, erzwungene. 482
 Antigen, heterogenes, und normale Hämolysine. 341
 — natives und gekochtes, Unterschied. 375, 381
 Bact. avicidum, Unterscheidung vom Bact. pseudotuberculosis. 1
 — coli, Verwendungsstoffwechsel. 353
 — dysenteriae Kruse-Sonne, Vorkommen und Differenzierung. 16, 398
 — enteritidis Gärtner und Ratinbakterien. 416
 — gallinarum, Unterscheidung vom Bact. pseudotuberculosis. 1
 — influenzae, ätiologische Bedeutung desselben. 232
 — paratyphi B, Verwendungsstoffwechsel. 353
 — pseudotuberculosis rodentium, Differentialdiagnose. 1
 — rhinoscleromatis, Wirkung der Galle auf dasselbe. 310
 Bakterien, Antagonisten, erzwungene. 482
 Bakteriengeißeln, Sichtbarmachung. 143
 Bakterienlipoide, Bedeutung bei der Phagozytose. 100
 Bakterienstoffwechsel, Aminostickstoffbestimmung mit Ninhydrin. 135
 Bakterien, Wirkung des Lichtes auf dieselben. 107
 Bartonella muris, Erreger der infektiösen Rattenanämie. 51
 Bayer 205, Immunisierung gegen Beschälseuche. 48
 Beschälseuche, Immunisierung mit Bayer 205. 48
 Bunsenbrenner, verbesserter. 98
 Cynopithecus maurus, Vorkommen von Oslerus cynopithecii in demselben. 430
 Darmprotozoen, Vorkommen in Holland. 406
 Desinfektionswirkung der Kupfersalze. 464
 Desinfektionswirkung der Metallsalze. 464, 475
 Drüsen, endokrine, und Immunitätsvorgänge. 115
 Dunkelfeld, Sichtbarmachung von Bakteriengeißeln in demselben. 143
 Entamoeba histolytica, Vorkommen in Holland. 406
 Enterokokken, Morphologie, Biologie, pathogene Bedeutung. 385
 Färbung nach Gram, Ursache derselben. 181
 Felis pardalis, Vorkommen von Oslerus felis in demselben. 430
 Gewebekultur, Verhalten des Variolavakzinevirus in denselben. 31
 Gordiidae, Vorkommen beim Menschen. 331
 Gramsche Färbung, Ursache derselben. 181
 Grippe, Aetiologie derselben. 232
 Hämolysine, Bildung unter Einfluß von Lipoiden. 8, 339
 — normale, und heterogenes Antigen. 341
 Hannover, Typhusepidemie. 361
 Hepaticola muris, Morphologie und Bedeutung derselben für die Epithelwucherung im Rattenmagen. 55
 Holland, Vorkommen von Darmprotozoen. 406
 Immunität, aktive, und Phagozytose. 93
 Immunitätsvorgänge und endokrine Drüsen. 115
 Indoltiter zur Begutachtung von Wasserproben. 346
 Influenza s. Grippe.
 Koktoimmunogen. 93, 375, 381
 Krankheiten, übertragbare, Ablauf derselben. 193
 Kulturschalen, neue. 344
 Kupfersalze, Desinfektionswirkung derselben. 464
 Lambliia intestinalis, Vorkommen in Holland. 406
 Leptospira febrilis, serologische Differenzierung. 80
 — — Widerstandsfähigkeit gegen äußere Einflüsse. 61
 — hebdomadis, serologische Differenzierung. 80
 — — Widerstandsfähigkeit gegen äußere Einflüsse. 61
 — icterohaemorrhagiae, serologische Differenzierung. 80

Leptospira icterohaemorrhagiae, Widerstandsfähigkeit gegen äußere Einflüsse.	61	Rhabdias bufonis, Infektionsweg.	444
— icteroides, serologische Differenzierung.	80	Rattenmagen, Epithelwucherung in demselben, verursacht durch Hepaticola muris.	55
— — Widerstandsfähigkeit gegen äußere Einflüsse.	61	Rattensarkom, Einfluß auf die infektiöse Rattenanämie.	51
Leptospiren, Wasser-, Widerstandsfähigkeit gegen äußere Einflüsse.	61	Rhabdonema nigrovenosum, Infektionsweg.	444
—, Widerstandsfähigkeit gegen äußere Einflüsse.	61	Ruhrbazillen, E-Rasse.	16, 398
Licht, ultraviolettes, Wirkung auf Bakterien.	107	Schalen, Kultur-, neue.	344
Lipoide der Bakterien, Rolle derselben bei der Phagozytose.	100	Scharlachstreptokokken, Methode, einheitliche, zum Nachweis derselben.	392
— Einfluß auf die Hämolysinbildung.	8, 339	Schlammfieber, Symptomatologie, Epidemiologie, Pathologie und Aetiologie desselben.	284
Mäusetyphus, Ablauf, zeitlicher, desselben.	193	Sklerombazillen s. Bac. rhinoscleromatis.	310
Malaria und Anophelismus.	251	Spirochäte s. a. Leptospira.	
Meinickes Trübungsreaktion, Einfluß von Narcoticis auf dieselbe.	129	Spirochaete icterogenes s. biflexa, Erreger des Schlammfiebers.	284
Metallsalze, Desinfektionswirkung derselben.	464, 475	Spirochäteninfektion, Bedeutung der Milz bei derselben.	321
Milz, Bedeutung derselben bei der Spirochäteninfektion.	321	Spirochäten, Widerstandsfähigkeit gegen äußere Einflüsse.	61
Milzbrandserum, Wertbestimmung.	247	Staphylokokken, Pathogenität derselben und Plasmakoagulose.	11
Nährböden, Aeskulin-.	350	Stoffwechsel der Bakterien, Aminostickstoffbestimmung mit Ninhydrin.	135
Naganol s. Bayer 205.		—, Verwendungs-, der Coli- und Paratyphus B-Bazillen.	353
Narcotica, Einfluß auf die Wassermann-Reaktion und Meinickes Trübungsreaktion.	129	Streptokokken, hämolytische, Methode, einheitliche, zum Nachweis derselben.	392
Nebennierentfernung, Einfluß auf die Immunitätsgänge.	115	Surraproblem, zoologische Beiträge zu demselben.	327
Opsonine, Erzeugung mit nativem und gekochtem Antigen.	375	Syphilis, Meinickes Trübungsreaktion.	129
Oslerus cynopithecii.	430	— Wassermann-Reaktion.	129
— felis.	430	Trypanosoma Evansi, durch Anopheles fuliginosus übertragen.	327
Paratyphusserum, einheitliches, umfassend polyvalentes.	225	Tumoren, Ratten-, Einfluß auf die infektiöse Rattenanämie.	51
Phagozytose, Bedeutung der Bakterienlipoide bei derselben.	100	— im Rattenmagen, durch Hepaticola muris verursacht.	55
— und Immunität, aktive.	93	—, Tier-, experimentelle Erzeugung.	44
Plasmakoagulase und Staphylokokkenpathogenität.	11	Typhusepidemie, bakteriologische Beobachtungen.	361
Plaut, Hugo, Verzeichnis seiner Arbeiten, Nachtrag.	487	Variola-Vakzinevirus, Verhalten in der Gewebekultur.	31
Pneumokokken, Unterschied zwischen nativem und gekochtem Antigen.	375, 381	Verwendungsstoffwechsel der Coli- und Paratyphus B-Bazillen.	353
Pocken, Variolavakzinevirus, Verhalten desselben in der Gewebekultur.	31	Wasser, Indoltiter zur Begutachtung desselben.	346
Protozoen des Darmes, Vorkommen in Holland.	406	Wassermann-Reaktion, Einfluß von Narcoticis auf dieselbe.	129
Ratinbakterien und Gärtner-Gruppe.	416	Weilsche Krankheit und sogenanntes Schlammfieber.	284
Rattenanämie, infektiöse, Einfluß des Jensen-Sarkom auf dieselbe.	51		

III. Verzeichnis der Abbildungen.

Anophelismus ohne Malaria. (Taf.)	262—267,	Licht, ultraviolettes, Wirkung auf Bakterien.	
	277, 278, 280, 281, 284		110—113
Bact. dysenteriae Kruse-Sonne (E-Rasse).	19	Mäusetyphus, zeitlicher Ablauf.	201—204,
Bakteriengeißeln, Sichtbarmachung im			206, 212, 214—216, 218—223
Dunkelfeld. (Taf. I—VII.)	147, 150,	Oslerus cynopithecii und Oslerus felis. (Taf.)	
	160, 164, 168, 170, 173—176, 180		433, 434, 444
Bunsen-Brenner, verbesserter.	99	Ratinbakterien, Stellung zur Gärtner-	
Hepaticola muris, Bedeutung für die Epithel-		Gruppe.	425
wucherung im Magen der Ratte. (Taf. I, II.)	60	Rhabdias bufonis. (Taf.)	448, 449, 453,
	345		462
Kulturschalen, neue.		Schlammfieber. (Taf. I, II.)	310, 311

